

**Über das Verhalten
des fibrinstabilisierenden Faktors (FSF)
bei der Niereninsuffizienz**

Klaus-Dieter Bruns

1964

Aus der II. Medizinischen Universitätsklinik Frankfurt am Main

Direktor: Prof. Dr. med. Joachim Frey

Über das Verhalten
des fibrinstabilisierenden Faktors (FSF)
bei der Niereninsuffizienz

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

zur

Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
zu Frankfurt am Main

vorgelegt von
Klaus-Dieter Bruns
aus Frankfurt am Main

Frankfurt/Main

1 9 6 4

Dekan:

Prof. Dr. H. Frick

Referent:

Prof. Dr. J. Jürgens

Korreferent:

Prof. Dr. O. Käser

Tag der mündlichen Prüfung: 18. Dezember 1964



MEINEN LIEBEN ELTERN

1. Die erste Zeile des Gedichtes

2. Die zweite Zeile des Gedichtes

3. Die dritte Zeile des Gedichtes

4. Die vierte Zeile des Gedichtes

a) Die Eltern

b) Die Eltern

c) Die Eltern

d) Die Eltern

e) Die Eltern

MEINEN LIEBEN ELTERN

5. Die fünfte Zeile des Gedichtes

6. Die sechste Zeile des Gedichtes

7. Die siebte Zeile des Gedichtes

8. Die achte Zeile des Gedichtes

9. Die neunte Zeile des Gedichtes

10. Die zehnte Zeile des Gedichtes

11. Die elfte Zeile des Gedichtes

12. Die zwölfte Zeile des Gedichtes

13. Die dreizehnte Zeile des Gedichtes

14. Die vierzehnte Zeile des Gedichtes

15. Die fünfzehnte Zeile des Gedichtes

16. Die sechzehnte Zeile des Gedichtes

17. Die siebzehnte Zeile des Gedichtes

18. Die achtzehnte Zeile des Gedichtes

19. Die neunzehnte Zeile des Gedichtes

20. Die zwanzigste Zeile des Gedichtes

21. Die einundzwanzigste Zeile des Gedichtes

22. Die zweiundzwanzigste Zeile des Gedichtes

23. Die dreiundzwanzigste Zeile des Gedichtes

24. Die vierundzwanzigste Zeile des Gedichtes

25. Die fünfundzwanzigste Zeile des Gedichtes

26. Die sechsundzwanzigste Zeile des Gedichtes

27. Die siebenundzwanzigste Zeile des Gedichtes



Digitized by the Internet Archive
in 2026

G l i e d e r u n g

A.: Einführung und Problemstellung

1. Niereninsuffizienz und Blutungsneigung

B.: Das System der Blutgerinnung

1. Physiologische Bedeutung
2. Die heutige Anschauung
 - a) Die Vorphase
 - b) Die 1. Phase
 - c) Die 2. Phase
 - d) Die Retraktionsphase
 - e) Die Fibrinolyse

C.: Der fibrinstabilisierende Faktor

1. Geschichte seiner Entdeckung
2. Chemische und physikalische Eigenschaften
3. Physiologische Bedeutung

D.: Methoden zum Nachweis und zur Untersuchung des fibrin-stabilisierenden Faktors

1. Untersuchung der Löslichkeit von Gerinnseln aus gereinigten Systemen in verdünnten Laugen oder Säuren
2. Die Thrombelastographie nach HARTERT
3. Nephelometrie

E.: Eigene Untersuchungen

a) Der fibrinstabilisierende Faktor im B l u t

1. Nachweis des FSF im Serum durch das Thrombelastogramm
 - a) Versuchsanordnung
 - b) Reagenzien
 - c) Ansätze in der Kuvette
 - d) Ergebnisse
2. Der FSF erhöht die thrombelastographisch gemessene Fibrinfestigkeit (mE-Wert)
 - a) Leerversuch
 - b) Mit Normalserum
 - c) Mit Uraemikerserum
 - d) Mit Vollblut
 - e) Vergleichende Untersuchungen
3. Abhängigkeit des mE-Wertes von unterschiedlichen Serummengen
 - a) Mit Normalserum
 - b) Mit Uraemikerserum

β) Zur Frage der Existenz des fibrinstabilisierenden Faktors im U r i n

1. Thrombelastographische Untersuchungen

- a) Versuchsansatz
- b) Ohne Urin - mit Normalurin
- c) Normalurin - Uraemikerurin
- d) Vergleichende Untersuchungen
- e) Abhängigkeit des mE-Wertes von der zugesetzten Urinmenge
- f) Versuch einer Erklärung
- g) Hemmung der fibrinolytischen Aktivität im Urin durch E-Aminocaprinsäure
- h) Einfluß von dialysiertem Urin mit EACA-Zusatz auf den mE-Wert im TEG

2. Nephelometrische Untersuchungen

- a) Einfluß von Urin auf die Fibrinstruktur
 - α) Versuchsansatz
 - β) Ohne Urin - mit Normalurin
 - γ) Normalurin - Uraemikerurin
- b) Abhängigkeit der optimalen Streulichtintensität ΔE von der Urinmenge
 - α) Nicht dialysierter Normal- und Uraemikerurin
 - β) Dialysierter Normal- und Uraemikerurin
- c) Einfluß steigender Urinvolumina auf die Reaktionszeit t_r

Zusammenfassung

Literaturverzeichnis

Lebenslauf

Meine akademischen Lehrer

Über das Verhalten des fibrinstabilisierenden Faktors (FSF) bei der Niereninsuffizienz

A.: Einführung und Problemstellung

Niereninsuffizienz und Blutungsneigung

Erkrankungen der Nieren infolge einer Ausbreitung von Bakterien auf haematogenem Wege sind häufig. Gelingt es trotz der modernen Therapie nicht, den Entzündungsprozeß zur Ausheilung zu bringen, so ist ein chronisches Schwelen der Entzündung die Folge. Dadurch kommt es im Laufe der Zeit zu einem fortschreitenden Untergang von funktionstüchtigem Nierenparenchym und damit zu einer allmählichen Einschränkung der spezifischen Nierenleistungen. Es beginnt eine zunächst noch latente Niereninsuffizienz, deren Ausdruck eine mäßige Zunahme der Reststickstoff-Fraktion im Blut ist. Durch die "kompensierende Retention" (SARRE 1) der harnpflichtigen Stoffwechselschlacken und eine Zwangspolyurie gelingt es dem Organismus, über lange Zeit das Manifestwerden der Niereninsuffizienz zu verhindern. Erst durch die langdauernde Überbeanspruchung der ausgleichenden Mechanismen kommt es schließlich zur Dekompensation, zur Uraemie.

Nun treten zunehmend Erscheinungen in den Vordergrund, die durch eine azotämische, toxische Gewebsreizung des Organismus bedingt sind: Eine chemische, abakterielle Entzündung spielt sich an prädisponierten Geweben ab: An den Schleimhäuten, an den serösen Häuten und an den mesenchymal-kapillären Teilen der Haut. Infolgedessen zeigen die Patienten Stomatitiden, Pharyngitiden und Gastroenterocolitiden mit - teilweise blutigen - Durchfällen. Häufig ist eine Pleuritis und eine Pericarditis sicca.

Eine hyperchloraemische A c i d o s e mit Hyponatriaemie, Hypocalcaemie und Hyperkaliaemie ist ebenso charakteristisch für die schwere chronische Niereninsuffizienz wie das Absinken des Bicarbonatspiegels im Plasma und die Hyperphosphataemie; letztere ist die Ursache des sekundären Hyperparathyreoidismus. Dazu findet man eine Polyurie mit Isosthenurie, die im Finalstadium in eine Oligurie umschlägt.

Die ungenügende renale Ausscheidung und die dadurch bedingte Retention der harnpflichtigen Stoffwechselschlacken im Blut ist eine der wesentlichsten Ursachen für die A n a e m i e, die fast alle Patienten mit manifester Niereninsuffizienz zeigen. Dazu kommt im Zustand der Uraemie eine auffällige B l u t u n g s - n e i g u n g. Magen- und Darmblutungen treten auf, und man sieht an der Haut eine Vielzahl von Petechien, zu denen sich ausgedehnte Sugillationen an den abhängigen Körperpartien, d.h. im Liegen am Gesäß, aber auch an den Injektionsstellen gesellen können.

GROSS et alii (2) konnten eine Leberparenchymschädigung als mögliche Ursache der Blutungsneigung nur in einem Drittel ihrer Fälle feststellen. Die Thrombozytenzahl ist oft normal, nur selten stärker erniedrigt! Jedoch fand man bei chronischen Uraemien in einem hohen Prozentsatz eine Verringerung der Thromboplastin- und der Accelerinwirksamkeit. Auch die Konzentration von Serotonin, das beim Thrombozytenzerfall freigesetzt wird, war bei den meisten Patienten herabgesetzt (MAC FARLANE 3). V. DITTRICH (4) sah eine Verlängerung der Gerinnungszeit in 65 % seiner Fälle.

Unsere Untersuchungen wollen das Problem der Blutungsneigung bei schwer niereninsuffizienten Patienten von der Seite des Gerinnungsthrombus angehen. Ist die Neigung zu Blutungen vielleicht durch eine "Minderwertigkeit" des sich bildenden Gerinnsels hinsichtlich seiner mechanischen Eigenschaften begründet? Insbesondere interessiert uns die Frage: Wie verhält sich der f i b r i n s t a b i l i s i e r e n d e F a k t o r im Serum bei der Niereninsuffizienz, jener Eiweißkörper, dessen Bedeutung für die Thrombusstrukturbildung heute unbestritten ist?

B.: Das System der Blutgerinnung

I. Physiologische Bedeutung

Um unsere späteren Versuchsansätze zu verstehen, müssen wir uns zunächst mit dem physiologischen Ablauf der Blutgerinnung in vivo beschäftigen, jenem geheimnisvollen Mechanismus, der unseren Körper vor allzu großen Blutverlusten schützt:

Unter G e r i n n u n g verstehen wir das Aufhören der Fließbarkeit des Blutes; d.h. das vorher flüssige Blut erstarrt und ein Eiweißkörper, den man Fibrin nennt, fällt aus. Die Gerinnung ist allerdings lange vor dem Ende der Fibrinproduktion vollständig; sie hat keine unmittelbare Beziehung zur endlichen Qualität und Menge des Fibrins (HARTERT 5).

II. Die heutige Anschauung (6, 7)

Nach dem heutigen Stand der Blutgerinnungsforschung unterscheiden wir bei dem physiologischen Ablauf der Vorgänge, die zur H a e m o s t a s e führen, fünf Abschnitte, die als Vorphase und als Phase Nr. 1 bis 4 bezeichnet werden. Die Vorphase ist durch die Bildung von Thrombokinase (Plasma- bzw. Gewebsthromboplastin) gekennzeichnet. Zur Entstehung der Plasmathrombokinase ist das Vorhandensein von Calciumionen, Thrombozyten mit Plättchenfaktor 3 und der plasmatischen Gerinnungsfaktoren Nr. VIII-XII unbedingt notwendig, während die Bildung des Gewebsthromboplastins nur die

Anwesenheit von Faktor VII, Faktor X und von Calciumionen erfordert.

Während der ersten Phase wird das Ferment Thrombin gebildet, das in der zweiten Phase die Umwandlung des löslichen Fibrinogen zu unlöslichem Fibrin katalysiert. Die dritte Phase dient zur Verfestigung des Gerinnsels durch die Retraktion, wobei eine bestimmte Volumenmenge an Serum ausgepreßt wird. Ein Vorgang, den man als Ablauf der Blutgerinnung in rückläufiger Weise bezeichnen könnte, spielt sich während der vierten Phase ab: Die Fibrinolyse. Durch das fibrinolytische Ferment Plasmin (Fibrinolysin) wird das Gerinnsel in kleinere Bruchstücke aufgespalten; dabei entstehen lösliche Fibrinabbauprodukte, die auf dem Blutwege abtransportiert werden können. Ihnen fehlt jedoch die Eigenschaft, erneut in unlösliches Fibrin umgewandelt zu werden.

In Wirklichkeit sind diese fünf Abschnitte des physiologischen Ablaufes der Blutgerinnung natürlich nicht so streng in der zeitlichen Reihenfolge gegeneinander abgegrenzt; vielmehr sind die Übergänge absolut fließend, und manche Vorgänge laufen mit unterschiedlichen Reaktionsgeschwindigkeiten nebeneinander her. Um ein Beispiel zu nennen: Die Fibrinolyse beginnt schon während der Retraktion des Gerinnsels und nicht erst viele Stunden nach dem Ende der dritten Phase.

C.: Der fibrinstabilisierende Faktor

I. Geschichte seiner Entdeckung

Die Entdeckung jenes Eiweißkörpers, der nach seiner Wirkung auf ein Fibringerinnsel "fibrinstabilisierender Faktor" (FSF) genannt wird, ist ein Beispiel dafür, wie verschiedene Forscher unabhängig voneinander und in größeren zeitlichen Abständen durch u n t e r s c h i e d l i c h e Untersuchungstechniken und differente Fragestellung die gleiche Wirkungskomponente jedesmal neu entdeckten und beschrieben.

Der FSF wurde in seiner erst zwei Jahrzehnte alten Geschichte bisher dreimal entdeckt und beschrieben:

Der Ruhm des Erstbeschreibers gebührt ohne Zweifel dem Amerikaner Kenneth C. ROBBINS, der im Jahre 1944 Untersuchungen über die Umwandlung von Fibrinogen zu Fibrin veröffentlichte (8). Er stellte fest, daß Fibringerinnsel nicht gleich Fibringerinnsel ist, sondern daß es wesentlich auf die "Zutaten" im Gerinnungsansatz ankommt, und daß große Unterschiede zwischen verschiedenen Gerinnseln im Hinblick auf ihre Löslichkeit in verdünnter Salzsäure bestehen. Seine Untersuchungen ließen ihn zu dem Schluß kommen, "daß sich im Serum n e b e n dem Calciumion ein Faktor findet, der für die in vitro Bildung von Fibrin nötig ist" und der dafür verantwortlich ist, "daß sich ein Gerinnsel aus Fibrinogen, Ca^{++} , Thrombin u n d Serum in 0,03 %iger Salzsäure n i c h t mehr löst"!

Robbins erkannte schon, daß "dieser Serumfaktor unbedingt notwendig ist", und daß "die Hinzugabe von Serum die Gerinnung beschleunigt". Nur gab er seiner Entdeckung noch keinen Namen

Vier Jahre später, 1948, beschrieben die Ungarn K. LAKI und L. LORAND (9) - damals noch in Budapest - die Beobachtung, daß ein Gerinnsel aus Fibrinogen und gereinigtem Thrombin sich in dem gleichen Volumen einer 60 %igen Harnstofflösung rasch auflöst, während "ein Gerinnsel aus rekalkifiziertem Plasma" in dieser Harnstofflösung unlöslich ist. Sie erklärten dies damit, "daß 2 Faktoren z u s a m m e n" für diese Eigenschaft des Gerinnsels "verantwortlich waren": "Calciumionen" und außerdem "irgend eine Komponente im Serum, die thermolabil zu sein scheint".

Im Verlauf ihrer weiteren Untersuchungen - später in den USA - gelang es ihnen, diesen ' S e r u m - Faktor ' SHULMAN (10) näher zu charakterisieren, und L. Löránd war es, der 1951 die heutige Bezeichnung fibrinstabilisierender Faktor (FSF) einführte.

In einer späteren Veröffentlichung betont K. LAKI (11) noch einmal, daß "der Unterschied zwischen den in Harnstoff löslichen und unlöslichen Gerinnseln durch die Anwesenheit von Calciumionen und einer nicht näher bestimmten Komponente im Serum bedingt ist". Dieser Serumfaktor wurde von ihm als "thermolabil und nicht dialysierbar" charakterisiert, der "offenbar ein Serum-Eiweißkörper sei". In die Wirkungsweise des Serumfaktors seien S u l f h y d r y l - g r u p p e n eingeschlossen. Der Grundmechanismus sei für den

Serumfaktor die Freisetzung von SH-Gruppen an den Fibrinmolekülen und daran anschließend "die Bildung von Disulfidbrücken zwischen benachbarten (Fibrin-)Molekülen". Erst wenn diese Reaktionen abgelaufen sind, "wird das Gerinnsel unlöslich"!

Schließlich veröffentlichten im Jahre 1957 H. HARTERT und Mitarbeiter (12) ihre mittels der Thrombelastographie gewonnenen Ergebnisse über ein "neues" Wirkungsprinzip im Serum, das sie 'R e t r a k - t i o n s - C o f a k t o r' nannten.

HARTERT (13) hatte schon einige Jahre zuvor durch vergleichende thrombelastographische Untersuchungen von Patientenblut mit normaler und stark erhöhter BSG gefunden, "daß sich bei Patienten mit hoher BSG auch in A b w e s e n h e i t von Thrombozyten ein etwa normaler mE-Wert findet" und daraus geschlossen, "daß n e b e n der normalen thrombusstrukturbildenden Wirkung der Thrombozyten ein z u s ä t z l i c h e r festigkeitssteigernder Mechanismus besteht, der - in vitro - von der direkten Mitwirkung der Thrombocyten u n a b h ä n g i g erscheint"!

Leider hat die Bezeichnung 'Retraktions-Cofaktor' viel Verwirrung in der Literatur hervorgerufen, bis erkannt wurde, daß die Autoren nur mit einer neuen Untersuchungsmethode einen Bestandteil des Serums untersucht hatten, dessen Existenz schon von ROBBINS, LENN und LORAND, SHULMAN u.a. auf Grund ganz anderer Fragestellungen und mit anderen Nachweismethoden bewiesen worden war.

J. JÜRGENS und R. MARX (14) konnten zeigen, daß dieser Cofaktor ein Komplement der G e r i n n s e l f e s t i g k e i t und n i c h t der Retraktion ist.

Nachdem nun die Existenz eines fibrinstabilisierenden Faktors heute unbestritten ist und viele Untersuchungen - vor allem auch biochemischer Art - über diesen Eiweißkörper erschienen sind, wollen wir ihn näher durch seine Eigenschaften charakterisieren.

II. Der fibrinstabilisierende Faktor

Synonyma: Laki-Lorand-Faktor

L-L-Faktor

Fibrin-Serum-Faktor (SHULMAN 10)

Urea-insolubility-factor

Schon die ersten Untersucher fanden, daß diese Wirkungskomponente einen Eiweißkörper darstellt, der durch Dialyse gegen die verschiedensten Medien n i c h t von den übrigen Plasmaproteinen abgetrennt werden kann. (LAKI 11, LOEWY und EDSALL 15, LORAND 16). Dieses Protein ist thermolabil (LAKI und LORAND 9, LAKI 11) und findet sich zusammen mit Fibrinogen (und Faktor VIII und Plasminogen) in der Fraktion I nach COHN und Mitarbeiter, während die Fraktion I-2 nach MORRISON, EDSALL und MILLER - (die aus der Fraktion I nach Cohn hergestellt wird) - f r e i von Laki-Lorand-Faktor ist. Mit halbgesättigter Ammonsulfatlösung kann der FSF zusammen mit Fibrinogen ausgefällt werden (SHULMAN 10, LOEWY und EDSALL 15, HARTERT 12); in der überstehenden Flüssigkeit ist keine Faktoraktivität mehr festzustellen.

Die hervorstechendste Eigenschaft dieses Proteins besteht in der Fähigkeit, ein Gerinnsel aus Fibrinogen, Thrombin und Calciumionen durch seine Anwesenheit in fünfmolarer (30 %iger) Harnstofflösung u n l ö s l i c h zu machen. *) Im Gegensatz dazu löst sich ein Gerinnsel o h n e FSF in fünfmolarer Harnstofflösung rasch wieder auf. **) LOEWY und EDSALL (15) konnten außerdem zeigen, daß ein zunächst (in Harnstofflösung) lösliches Gerinnsel n a c h dem Ende des Gerinnungsablaufes noch in ein u n l ö s l i c h e s Gerinnsel durch Zugabe von Fraktion I nach COHN oder durch Hinzufügen von Serum übergeführt werden konnte.

Nach HARTERT (17) findet sich der Faktor in der Alpha-Globulin-Fraktion; "Albumin und Gamma-Globulin enthalten keine wesentlichen Anteile des Faktors" (HARTERT, 1954).

*) (LOEWY und EDSALL (15) bezeichneten dieses Gerinnsel als "fibrin i" (i = insoluble); LAKI und LORAND (9) benutzten eine 60 %ige Harnstofflösung. ROBBINS (8) eine 0,03 %ige Salzsäurelösung für die entsprechenden Versuche).

**) (LOEWY und EDSALL (15) sprechen von "fibrin s" (s = soluble); LAKI und LORAND (9) führten die Versuche mit 60 %iger Harnstofflösung aus).

Auch LORAND und JACOBSEN (18) meinen auf Grund ihrer Versuche, "daß der FSF ein Plasma-Globulin zu sein scheint". Im Gegensatz dazu findet SOKAL (19) 1959 auf Grund seiner subtilen Analysen mit Hilfe der präparativen Elektrophorese auf thrombelastographischem Wege, "daß eine sehr enge Übereinstimmung zwischen der größten Elastizität (des Gerinnsels) d.h. dem mE-Wert und den Proteinkonzentrationen der A l b u m i n - Fraktion besteht", und daß Serum-Albumin eine optimale Aktivität zwischen 12 und 25 mg/ml aufweist (20). LORAND und JACOBSEN (18) fanden dagegen in Humanserum-Albumin k e i n e FSF-Aktivität.

In diesem Zusammenhang sind die Feststellungen von SHULMAN (10) im Jahre 1953 beachtenswert, der Serumalbumin vom Rind als Ersatz für den Laki-Lorand-Faktor verwenden konnte. SOKAL (20) zeigte, daß mit reinstem Humanalbumin - in Serum-Ultrafiltrat gelöst - sich im TEG dieselbe Maximalamplitude reproduzieren läßt wie mit Normalserum, während Betatransferrin und Gamma-Globulin keine deutliche Aktivität zeigen.

Der FSF ist l a g e r u n g s s t a b i l (LORAND und JACOBSEN 18, HARTERT 12, LORAND 16): Nach LORAND und JACOBSEN "über lange Zeitschnitte im P l a s m a", während er in den gereinigten Fraktionen l a g e r u n g s l a b i l ist, wenn man nicht Cystein zusetzt. Die Schutzfunktion von Cystein ist für die beiden Untersucher ein Anhalt dafür, "daß einige (freie) SH-Gruppen w e s e n t l i c h für die biologische Aktivität des FSF sind".

Wird Serum bei Zimmertemperatur aufbewahrt, dann ist die Aktivität dieses Eiweißkörpers bis zu 10 Tagen nach der Blutentnahme unverändert (HARTERT 12). Der Laki-Lorand-Faktor wird zerstört, wenn Serum eingefroren und wieder aufgetaut oder für 30 Minuten auf 57°C erhitzt wird (HARTERT 12). (Nach LORAND (16) bei zehnmütigem Erhitzen auf 60°C). (SOKAL (19) findet, "daß dieser Faktor relativ t h e r m o s t a b i l ist": Eine dreißigminutenlange Erwärmung auf 36°C führt zu keinem Aktivitätsverlust).

Der FSF kann durch Bariumsulfat (SOKAL 19, HARTERT 12), Bariumcarbonat, Aluminiumhydroxyd und Kohle n i c h t adsorbiert werden (HARTERT 12).

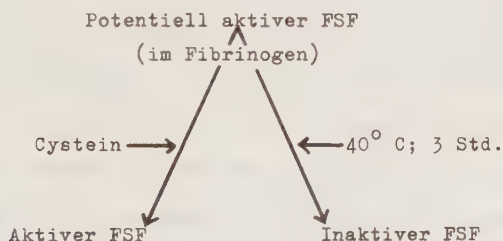
Der isoelektrische Punkt, d.h. das Minimum an Löslichkeit, liegt bei pH 5,1 - 5,3 (HARTERT 12), nach LORAND (19) wird der FSF bei einem pH von 5,0 - 5,2 inaktiviert.

Die Aktivität dieser Wirkungskomponente ist nach HARTERT (12) im Blutplasma nur gering; während des Gerinnungsvorganges nimmt - gleichsinnig mit dem Prothrombinverbrauch - die Aktivität zu, und erst im Blutserum erreicht die Menge an fibrinstabilisierendem Faktor ihr Maximum.

Auf Grund von biochemischen Untersuchungen konnten LORAND und JACOBSEN (18) zeigen, daß die Reaktion zwischen Fibrin und fibrinstabilisierendem Faktor nur in bestimmten stöchiometrischen Verhältnissen möglich ist. Das Endprodukt, das von den Autoren als "c o p o l y - m e r" aus Fibrin und FSF bezeichnet wird, ergibt ein Gerinnsel, das in Harnstofflösung und Monochloressigsäure u n l ö s l i c h ist.

Das stöchiometrische Verhältnis FSF zu Fibrin wird von LORAND (18) mit etwa 1:25 angegeben (unter der Annahme, daß Fibrin ein Molekulargewicht von 400 000 und FSF ein solches von 100 000 zukommt).

Die beiden Autoren glauben den Nachweis erbracht zu haben, daß Cystein die Wirkung von FSF n i c h t ersetzen kann, wie LOEWY und EDSALL (15) annahmen, sondern dass Cystein eine "potentiell aktive Form (=Vorstufe?) des FSF" a k t i v i e r e n kann. Diese Form ist in herkömmlich gereinigtem Fibrinogen als V e r u n r e i n i g u n g enthalten. Die verschiedenen Formen von FSF sind in dem folgenden Schema dargestellt (nach LORAND 18):



Da die zur Gerinnung führende Umwandlung von Fibrinogen zu Fibrin im Plasma immer in Gegenwart von in Ü b e r s c h u s s vorhandenem Calcium und FSF vor sich geht, ist es sehr wahrscheinlich, daß nur das in Harnstoff u n l ö s l i c h e Gerinnsel, welches wir heute mit LORAND als Copolymer aus Fibrin und FSF in bestimmtem stöchiometrischem Verhältnis auffassen, unter physiologischen Bedingungen vorkommt.

III. Physiologische Bedeutung

Welche physiologische Bedeutung kommt diesem Eiweißkörper zu, der fibrinstabilisierender Faktor genannt wird?

Um diese Frage beantworten zu können, müssen wir uns zunächst ein wenig mit der Gerinnungsbildung in vivo beschäftigen:

Die Bedeutung des Gerinnungsthrombus als sinnvolle Schutz-
einrichtung vor gefährlichen Blutverlusten ist aus dem schon früher
Gesagten klar. - Ziel ist eine wirksame Blutstillung. - Diese ist
jedoch abhängig von der "Qualität" des Gerinnsels. Dabei verstehen
wir mit HARTERT (5) unter Qualität die mechanischen Eigenschaften
des Gerinnungsthrombus, seine Festigkeit und Elastizität, seine
Beschaffenheit und Belastbarkeit; alle diese Faktoren sind von der
Thrombusstrukturbildung abhängig, und es ist verständlich, "daß die
Festigkeit eines Gerinnsels und unter gewissen Bedingungen seine
Retraktilität die wirklichen Merkmale seiner Funktionstüchtigkeit
sind" (HARTERT 5).

Die mechanischen Eigenschaften des Fibringerinnsels sind in hohem
Maße ein Kriterium, die den Gesunden vom Gerinnungsinsuffizienten
unterscheiden. "Die strukturelle Beschaffenheit des Gerinnsels,
seine Elastizität, ist deshalb der funktionelle Gesamtausdruck
der produktiven Blutgerinnung" (HARTERT 5) und damit ausschlag-
gebend für seine Funktion in vivo.

Welche Komponenten sind zum Aufbau eines normal festen Thrombus nötig?

Wir wissen heute, daß die Gerinnselfestigkeit ein Komplexphänomen (31) ist, und daß viele Faktoren gleichzeitig vorhanden sein und zusammenwirken müssen, damit eine optimale Strukturbildung, die physiologischen Ansprüchen genügt, gewährleistet ist. Im einzelnen sind folgende Bestandteile des Blutes nötig:

1. Fibrinogen

Das primäre Substrat der Gerinnung ist natürlich von großer Bedeutung, da es die Voraussetzung für das Einwirken der übrigen Faktoren bildet. Eine bestimmte Mindestkonzentration im Blut muß vorhanden sein, obwohl schon physiologischerweise Schwankungen des Plasma-Spiegels von 100 % und mehr vorkommen. Möglicherweise spielt auch die Fibrinogenqualität eine Rolle.

2. Thrombin

Das Ferment, das die Fibrinogen-Fibrin-Umwandlung katalysiert, muß unbedingt vorhanden sein; allerdings genügen schon kleinste Mengen, da die Wirkungsintensität sehr groß ist.

3. Calciumionen

Neben Thrombin muß auch ionisiertes Calcium bei der Fibrinbildung zugegen sein (LORAND 18), da sonst ein abnormes Gerinnsel entsteht. (Obwohl Thrombin a l l e i n genügt, um Fibrinogen in Fibrin zu verwandeln). Das Calcium ist offenbar notwendig für die Erzeugung von Nebenbindungen im Fibrin-Molekül.

4. Thrombozyten

Ein wichtiger Faktor sind funktionell intakte Thrombozyten, die mit ihrem Plättchenfaktor II die Ausbildung des Fibrins beein-

flussen und für die Retraktion von ausschlaggebender Bedeutung sind. Durch diesen Vorgang, der Glukose als energielieferndes Substrat benötigt (LÜSCHER 21), wird die Festigkeit des Gerinnsels bedeutend erhöht.

Die Zahl der Thrombozyten unterliegt großen Schwankungen; nach den Untersuchungen von HARTERT (22) kann eine Zahl von 50 000/mm³ jedoch nicht mehr als die kritische untere Grenze angesehen werden, sondern ausschlaggebend ist allein die noch vorhandene Funktionstüchtigkeit der Thrombozyten, die für die Verknüpfung der Fibrin-Moleküle verantwortlich ist. Der normale Ablauf der Thrombusbildung ist also auch an die funktionelle Intaktheit der Thrombozyten gebunden.

5. Physiologisches Ionenmilieu des Blutes

Diese von TEZNER (23) gewonnene Erkenntnis besagt, daß ein wohl definiertes - eben physiologisches - Ionenmilieu die Voraussetzung für das Reagieren der übrigen Komponenten ist.

6. Körpertemperatur von 37° C

7. Fibrinstabilisierender Faktor

Dieser Eiweißkörper, dessen mehrfache Entdeckung wir oben ausführlich beschrieben haben, benötigt für seine Wirkung das physiologische Ionenmilieu des Blutes.

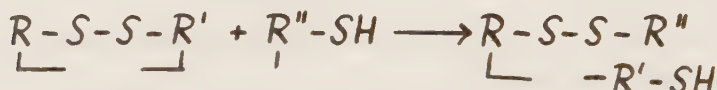
Durch seine Mitwirkung wird ein Gerinnsel aus gereinigten Systemen (Fibrinogen, Thrombin, Calcium-Ionen) in schwachen Säuren und Laugen (ROBBINS 8) bzw. in 5 molarer Harnstofflösung (LOEWY und EDSALL 15, LAKI und LORAND 9) unlöslich. Bei thrombelastographischen Untersuchungen wird die mechanische Festigkeit eines

unter Anwesenheit dieses Proteins entstandenen Gerinnsels (und als Ausdruck dieser auch der mE-Wert) beträchtlich erhöht im Vergleich zu Gerinnseln, die in Abwesenheit des fibrinstabilisierenden Faktors entstanden sind. Über seine Wirkungsweise wissen wir bis heute folgendes:

Nach den Untersuchungen von LOEWY und EDSALL (15), die von SOKAL (19) bestätigt wurden, können Thioglycolat, Cystein und vor allem Gluthathion, nach SOKAL (19) auch Cystin, die Serumfaktorfunktion ersetzen. Dieses Ergebnis legt die Vermutung sehr nahe, daß der FSF Sulfhydryl-Gruppen an den Enden der Fibrinmoleküle freisetzt und anschließend durch Oxydation Disulfid-Brücken i n t e r m o l e k u l a r im Fibrin formt, d.h. zwischen benachbart liegenden Fibrinmolekülen. Wichtig ist also das Vorhandensein von f r e i e n Sulfhydryl-Gruppen im Molekül des FSF. Durch diesen Vorgang wird das Gerinnsel in Harnstofflösungen unlöslich. Nach den Vorstellungen von LOEWY und EDSALL (15) erscheint es wahrscheinlich, daß "fibrin i" alle chemischen Bindungen wie "fibrin s" enthält, sowie z u s ä t z l i c h bestimmte N e b e n b i n d u n g e n, die sehr viel stärkeren Bindungskräften entsprechen. Die Ausbildung dieser zusätzlichen Bindung ist von einer chemischen Reaktion abhängig, an deren Ablauf SH-Gruppen beteiligt sind. Diese Sulfhydryl-Gruppen können mit S-S-Brücken so reagieren, daß eine Kettenreaktion ausgelöst wird, durch die i n t r a m o l e k u l a r e Disulfidbindungen in i n t e r m o l e k u l a r e S-S-Bindungen umgewandelt werden. Als zusätzlichen Beweis für diese Anschauung kann die Feststellung von LOEWY und EDSALL (15) dienen -

die auch von Nachuntersuchern (HARTERT 12, SOKAL 19) bestätigt wurde - daß Substanzen, die Sulfhydrylgruppen blockieren (Monojodessigsäure, Para-Chloro-Mercuribenzoat), die Funktion des fibrinstabilisierenden Faktors hemmen: Die richtige Ausbildung der Struktur des Fbringerinnsels wird unterdrückt! SOKAL (19) fand, daß Monojodessigsäure keinen Effekt auf die Reaktionszeit Thrombin-Fibrinogen besitzt, daß aber die Maximalamplitude im Thrombelastogramm verringert wird.

Das folgende Schema von HUGGINS und Mitarbeitern (24) drückt in Form einer Reaktionsgleichung den Vorgang möglicherweise richtig aus:



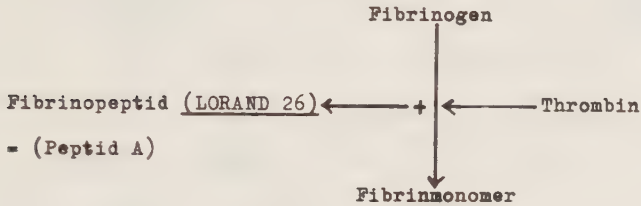
Wir wissen heute, daß Fibrinmonomer intramolekular Disulfidbindungen aufweist. LORAND (18) nimmt an, daß während der Polymerisation von Fibrinogenrestmolekülen ("Fibrinmonomeren") zu Fibrin das Plasmaglobulin FSF durch seine Sulfhydrylgruppen mit den S-S-Bindungen der Fibrinpolymere so reagiert, daß ein Copolymer aus Fibrin und FSF durch intermolekulare Disulfidbrücken entsteht.

Als Abschluß dieser Betrachtungen wollen wir in einem Schema noch einmal die einzelnen Reaktionsschritte formulieren, die von dem

Substrat Fibrinogen ausgehend zu dem Endprodukt "Fibrin-FSF-Copolymer" (LORAND 18) führen:

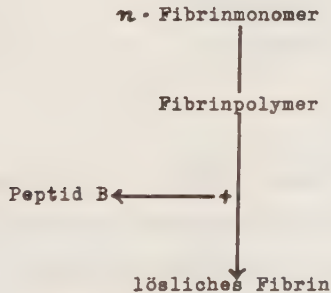
I. Schritt:

Fermentative Hydrolyse durch Thrombin:



II. Schritt:

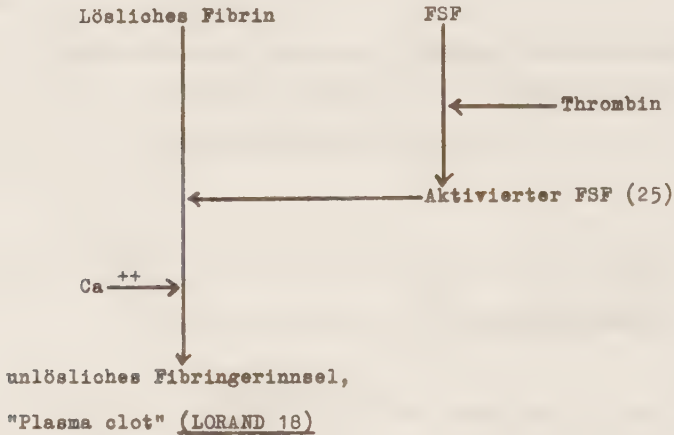
Spontane Aggregation von Fibrinmonomeren:



III. Schritt: "Gerinnung":

Polymerisation zwischen löslichen Fibrinmolekülen und aktiviertem FSF:

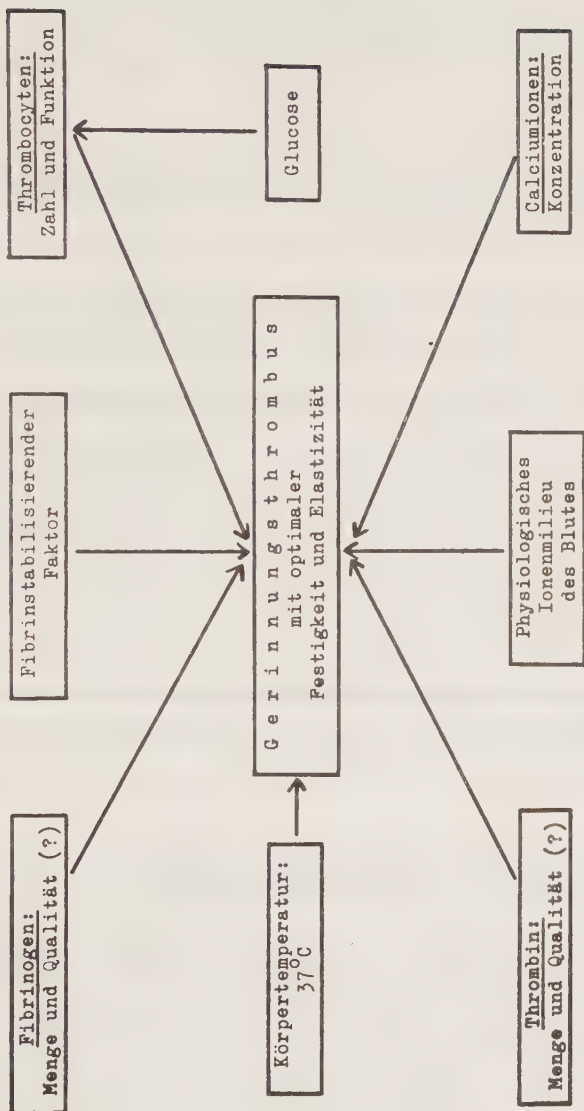
Fibrin-FSF-Copolymer, in Harnstofflösung und Monochloressigsäure unlöslich (18)!



Es kann heute als gesichert gelten, daß für diesen letzten Schritt den Sulfhydrylgruppen des aktivierten fibrinstabilisierenden Faktors bei der Bildung des unlöslichen Gerinnsels eine besondere Bedeutung zukommt. Aus seiner "potentiell aktiven" Vorstufe wird der FSF durch das Ferment *T h r o m b i n* in die aktivierte Form übergeführt (LORAND und KONISHI 25).

Eine Zusammenfassung aller für die Gerinnselstrukturbildung bedeutsamen Faktoren zeigt das folgende Schema:

Welche Faktoren beeinflussen die "Qualität" eines Gerinnseils unter physiologischen Bedingungen?



D.: Methoden zum Nachweis und zur Untersuchung des fibrinstabilisierenden Faktors im Blut und im Urin

I. Löslichkeit von Gerinnseln aus gereinigten Systemen in verdünnten Laugen oder Säuren

Die einfachste und von den Erstuntersuchern des FSF zunächst allein angewandte Methode zur qualitativen Beurteilung von Gerinnseln besteht darin, diese in verdünnte Säuren, Laugen oder sonstige Lösungen zu geben: Nachdem Ansätze aus gereinigten Systemen zur Gerinnung gebracht worden sind, löst man das Gerinnsel vorsichtig aus den Küvetten heraus und setzt es z. B. einer verdünnten Salzsäurelösung oder einer Harnstofflösung aus. Rein visuell kann man dann feststellen: Das Gerinnsel löst sich oder nicht.

Um feinere Aufschlüsse zu erhalten und quantitative Untersuchungen durchzuführen bedarf es jedoch der im folgenden beschriebenen komplizierten Methoden:

II. Die Thrombelastographie nach HARTERT

Der von HARTERT (5) 1948 erstmalig angegebene Thrombelastograph ermöglicht mit vorher nie gekannter Genauigkeit, Aufschlüsse über die Elastizität von Gerinnseln zu erhalten. Diese neue Methode erlaubt die kontinuierliche Aufzeichnung und Beobachtung von gerei-

nigten Gerinnungsansätzen und von Vollblut während aller Phasen der Gerinnung bei einer konstanten Temperatur von 37°C und unter völligem Luftabschluß. Vor allem ermöglicht uns die Thrombelastographie eine voll automatische Messung der elastischen Eigenschaften und damit der mechanischen Belastbarkeit des bei der Gerinnung entstehenden Fibringerinnsels. Letztere wird in besonderem Maße von der Einwirkung des fibrinstabilisierenden Faktors beeinflusst, und somit ist der Thrombelastograph hervorragend zur Untersuchung dieser Komponente geeignet.

Prinzip: (siehe auch Abb. Nr. 1)

In eine zylindrische Küvette 1 aus V2A-Stahl (unbenetzbare Oberfläche) ragt ein zylindrischer Stift 5 aus demselben Material soweit hinein, daß er vom Boden und von den Wänden der Küvette etwa gleichen Abstand hat. Der Stift ist an einem Stahldraht 4 torsionselastisch aufgehängt, der an seinem oberen Ende ein kleines Spiegelchen 7 trägt. Die Küvette wird durch einen Bewegungsmechanismus in bestimmtem periodischen Ablauf um einen Winkel von $4^{\circ} 45'$ hin- und hergedreht.

Um eine Untersuchung durchzuführen, füllt man die Küvette mit Venenblut oder künstlichen Gerinnungsansätzen und setzt die Drehpendelbewegung in Gang, nachdem man zuvor noch den Stift heruntergedreht und mit Paraffinöl (zum Schutz gegen Verdunstung und Gasaustausch) überschichtet hatte. Nach Einsetzen der Gerinnung wird der - im noch nicht geronnenen Blut ruhighängende - Stift infolge der Ausbildung eines Netzes elastischer Fibrinfäden zwischen Kü-

vettenwand und Stift mitgedreht. Diese Drehung ist umso stärker je fester das Gerinnsel wird und erreicht ihr Maximum am Ende der Gerinnung.

In dem der Stiftdrehung entsprechenden Maße wird der Stahldraht torquiert, und damit nehmen auch die Ausschläge eines von dem Spiegelchen reflektierten Lichtstrahles zu. Diese kann man photokymographisch auf einem Film aufzeichnen und erhält dann charakteristische Kurvenbilder (s. auch Abb. Nr. 2). Es wird also die elastische Kraft des Gerinnsels gemessen, wobei die Amplitude der Stiftdrehung gleichsinnig mit der Zunahme der Thrombusfestigkeit anwächst. Für unsere Untersuchungen interessiert uns vor allem die Maximalamplitude der Kurven (der mE-Wert), denn diese Größe ist Ausdruck der Thrombusfestigkeit und damit auch ein Maß für die mechanische Belastbarkeit des Gerinnsels.

Um exakte und miteinander vergleichbare Ergebnisse zu erhalten, haben wir - mit wenigen Ausnahmen - ein konstantes Küvettenvolumen von 0,375 ml streng eingehalten.

Wie wir in einem früheren Abschnitt ausführlicher dargestellt haben, ist die Gerinnselfestigkeit - und als Ausdruck dieser der mE-Wert - ein Komplexphänomen, das u.a. in erheblichem Maße von dem fibrinstabilisierenden Serum-Protein beeinflusst wird. Unter der Voraussetzung, daß wir in unseren Versuchen die Konzentration der übrigen Faktoren konstant lassen, wird es möglich sein, Veränderungen dieses spezifischen Faktors zu erfassen.

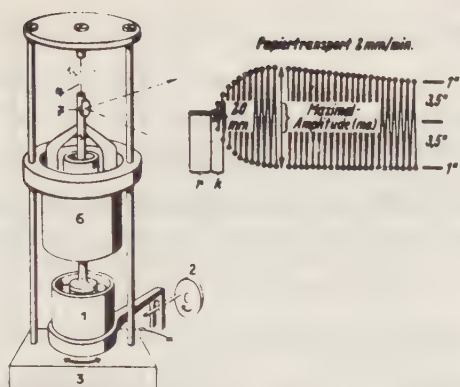


Abb. 79. Prinzip der Thrombelastographie (nach *Hartert*) (schematisch).

Abb. 1 Prinzip der Thrombelastographie nach HARTERT

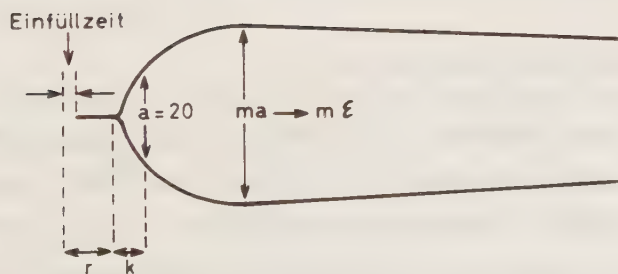


Abb. 2 Normales Thrombelastogramm (schematisch)

III. Nephelometrie

Bei der Nephelometrie (32) handelt es sich um ein Verfahren, das uns erlaubt, auf lichtoptischem Wege den Ablauf von zur Gerinnung gebrachten gereinigten Gerinnungsansätzen zu verfolgen und zu messen. Wir unterscheiden prinzipiell nach der Art der Meßtechnik:

1. die Trübungsmessung,

bei der die Messung im direkten Strahlengang ausgeführt wird und

2. die Streulichtmessung,

bei der die Lichtstrahlen von den Teilchen in der Flüssigkeit gestreut werden und so in eine seitlich angebrachte Selenzelle fallen. Die Lichtintensität ist von der Fibrindichte und von der Anzahl und Größe der entstehenden Teilchen direkt abhängig.

Wir benutzten für unsere Versuche nur die Streulichtmessung.

Versuchsanordnung (siehe Abb. Nr. 3):

Die von einer Lichtquelle L ausgesandten Lichtstrahlen treten nach Durchdringung eines speziellen Filters in eine Küvette ein, die in einem besonderen Küvettenhalter steht und das zur Untersuchung bestimmte Gerinnungssubstrat enthält. Im rechten Winkel zur Ausbreitung der Lichtstrahlen befindet sich neben der Küvette eine Photozelle (Selenzelle), die ihre Impulse durch Streuung des Lichtes an den Teilchen in der Küvette erhält.

Mit der während der Gerinnung eintretenden Teilchenvermehrung nimmt die auf die Photozelle auftreffende Lichtintensität zu (Tyndall-

phänomen), bei Messung im direkten Strahlengang (photometrische Messung) nimmt die Lichtintensität ab.

Zur Ausführung der nephelometrischen Untersuchungen benutzen wir das Photometer "Eppendorf" der Firma Netheler & Hinz, Hamburg. In den Filterhalter setzt man das Filter "Nephelometrie" (Eppendorf) mit einem Durchlaßbereich von 400 - 600 Nanometer. Mit dem Photometer ist ein Schreibgerät gekoppelt, welches die gemessenen Werte automatisch aufzeichnet. Man erhält dadurch typische Kurven (siehe auch Abb. Nr. 4), die u.a. zwei spezielle Größen unterscheiden lassen:

1. die sog. Latenzzeit = Reaktionszeit t_r (Zeit vom Beginn der Recalcifizierung bzw. Einleitung der Gerinnung bis zur ersten Änderung der Streulichtintensität)
2. die Kurvenbreite, ΔE : als optimale Streuintensität bezeichnet, die Ausdruck der bei der Gerinnung entstandenen Fibrinteilchen und deren Vernetzung ist.

Nach Inbetriebnahme des Photometers und nach Einsetzen einer Küvette mit Blindlösung wird mit Hilfe dieser Eich-(Leer-)Küvette die Lichtmarke vor Beginn der Versuche auf einen bestimmten Ausgangswert eingestellt, um miteinander vergleichbare Ergebnisse zu erhalten: Diesen Ausgangswert haben wir durch viele Vorversuche erhalten. Das wichtigste Kriterium war für uns dabei eine optimale graphische Registrierung der einzelnen Gerinnungsphasen bei unterschiedlichen Konzentrationen an den einzelnen Gerinnungssubstraten.

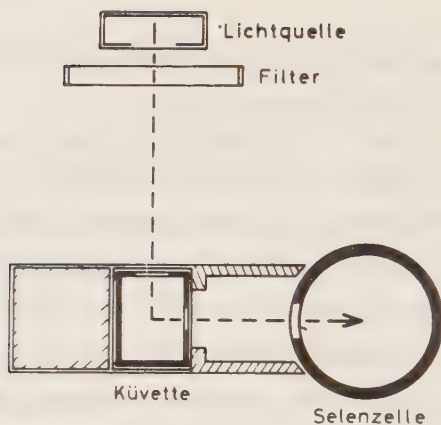


Abb. 3 Schema der Versuchsanordnung zur Streulichtmessung

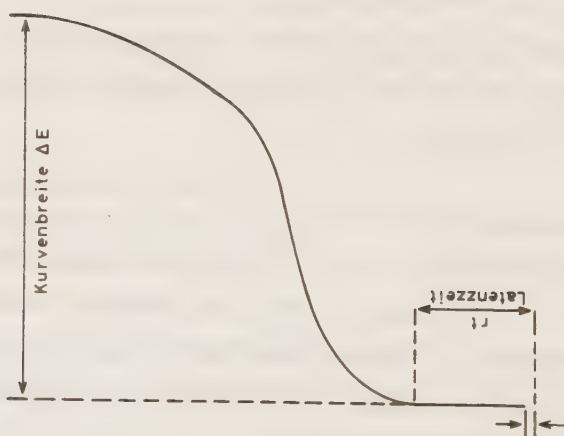


Abb. 4 Graphische Registrierung einer nephelometrischen Untersuchung (Schema)

Der Grobregler für Empfindlichkeit wird nach Freigabe des Lichtstrahles in die Position 8 gedreht und dann mit Hilfe des Feinreglers die Lichtmarke so weit nach rechts verschoben, bis sie genau auf 1.300 steht. Dann wird nach Schließung des Lichtweges die Küvette eingesetzt, mit den Gerinnungsansätzen gefüllt und nun der Lichtweg erneut freigegeben, sodaß der Lichtstrahl durch die Lösung treten kann. An den während des Gerinnungsvorganges entstehenden Fibrinteilchen wird das Licht so gestreut, daß ein Teil davon in die im rechten Winkel zur Ausbreitung des Lichtstrahles gelegene Selenzelle fällt (siehe Schema der Versuchsanordnung). Das Ende des Versuches erkennt man daran, daß der Kurvenast asymptotisch zu einer Geraden verläuft, die der Geraden "Latenzzeit" parallel geht.

E.: Eigene Untersuchungen

a) Der fibrinstabilisierende Faktor im Blut

a) Durchführung der Versuche:

Wir führten zunächst Versuche mit Serum und mit Vollblut im Thrombelastographen aus. Das S e r u m wurde durch spontane Gerinnung und Retraktion von Patientenblut gewonnen.

Die Versuche mit V o l l b l u t wurden folgendermaßen vorgenommen:

Die vorgewärmte Küvette wird im Küvettenhalter zum Bett des Patienten auf die Station getragen. Dort läßt man nach der Venenpunktion das Blut aus der Kanüle in die Küvette einfließen, und dieser Augenblick wird mit einer Stoppuhr festgehalten. Anschließend wird die Küvette im Laufschrift (sog. "Marathontechnik") zurück ins Labor gebracht und in den Thrombelastographen eingesetzt. Danach erfolgt sofort das Herunterdrehen des Stiftes und das Überschichten mit Parafin. Die Einfüllzeit (s.u.) beträgt bei diesen Versuchen z w e i Minuten.

b) Reagenzien:

Zur Durchführung unserer Versuche benutzten wir in den Gerinnungsansätzen für die Küvetten folgende Reagenzien:

1. Rinderfibrinogen (Behringwerke)

Herstellung der Fibrinogenlösung: Das Originalröhrchen mit 60 mg Fibrinogen wurde nach der Entnahme aus dem Kühlschrank für 15 Minuten bei Labortemperatur (22° C) erwärmt. Anschließend setzten wir 2 ml physiologischer Kochsalzlösung (0,85 %ig) zu und stellten das Röhrchen für eine Stunde in einen Thermostaten mit Wasser von 37° C. Während dieser Zeit tritt eine Spontanquellung ein, und ein Teil des Fibrinogens löst sich. Danach fügten wir die Menge an Veronalpuffer zu, die zur Erreichung der von uns gewünschten Fibrinogenkonzentration nötig war und ließen den Lösungsansatz so lange im Wasserbad stehen, bis der größte Teil des Fibrinogens spontan gelöst war. Der Rest wurde vorsichtig mit einem Glasstab verteilt, bis die Lösung klar war.

In allen Versuchen betrug die Konzentration an Fibrinogen - sofern nichts anderes angegeben - 2000 mg %. Der Ansatz dafür lautet:

60 mg gelöst in 2 ml phys. NaCl und

1 ml Veronalpuffer

2. Topostasin "Roche" zur Herstellung der Thrombinlösungen

Das Thrombin wurde in 6/40 molarer Calciumchloridlösung gelöst, um in allen Versuchen die nötige Konzentration an Calciumionen zu haben. Wir stellten auf einmal größere Mengen an CaCl_2 - Thrombinlösung her, füllten sie in Reagenzgläser ab und lagerten diese in der Tiefkühltruhe bei -28° C. Da die Konzentration an ionisiertem

Calcium von großer Bedeutung ist, haben wir sie in allen Versuchen konstant gehalten. Die Lösungen wurden für alle Versuche frisch aufgetaut und am gleichen Tag noch verbraucht. Überschüssiges Thrombinreagenz wurde verworfen und *n i c h t* noch einmal eingefroren.

3. Puffer

Zur Konstanthaltung des Milieus verwandten wir bei allen Gerinnungsansätzen Veronalpuffer vom pH 7,6 nach OWREN (Diäthylbarbitursäure-Pufferlösung "Behringwerke").

4. Küvetten

Die Küvetten zur nephelometrischen Untersuchung wurden nach jedem Versuch sorgfältig gereinigt, an der Luft getrocknet und die optisch genutzten Flächen *n i c h t* mit den Fingern berührt, während wir sie in den Küvettenhalter einsetzten.

5. Thrombelastograph

Mit dem Thrombelastographen kann man drei Gerinnselansätze gleichzeitig aufzeichnen. Für jede Serie wurden immer dieselben Reagenzien verwandt. Die Küvetten wurden 15 Min. vorgewärmt und nach jedem Versuch sorgsam gereinigt, um die Wandungen möglichst "unbenetzbar" zu erhalten.

6. Technik

Um den zeitlichen Beginn der Registrierung im TEG zu vereinheitlichen, haben wir bei allen Versuchen mit gereinigten Systemen die sog. E i n f ü l l z e i t konstant gehalten: Sie betrug 60 Sek. Als Einfüllzeit rechnen wir die Zeit vom gestoppten Augenblick der Zugabe von Thrombin-Calciumlösung (und damit Auslösung der Gerinnung) bis zum Öffnen der Klappe im TEG, die den Lichtweg zum registrierenden Film freigibt. Während dieser Zeit konnten alle Manipulationen am Gerät vorgenommen werden; d. h. Herunterdrehen des eintauchenden Stiftes und Übersichten der Küvettenoberfläche mit Paraffin.

c) Ansätze in der Küvette:

Für eine thrombelastographische Vergleichsserie haben wir immer die g l e i c h e n, frisch zubereiteten Reagenzien benutzt. Den von HARTERT (12) angegebenen Ansatz haben wir etwas modifiziert: Wir benutzten für die Untersuchung von Blut im TEG folgendes Mengenverhältnis pro Küvette:

0,1 ml Fibrinogenlösung

0,1 ml Serum

0,1 ml Veronalpuffer

0,075 ml Calciumchloridlösung, in der Thrombin
gelöst ist (das Volumen ist durch eine
automatische Pipette bedingt).

Wir haben im Gegensatz zu anderen Untersuchern bei unseren Küvettenansätzen k e i n e Thrombocyten zugesetzt, um e i n e mögliche Fehlerquelle bei den vielen Versuchen auszuschließen, da eine immer gleichbleibende "Qualität" bzw. Funktionstüchtigkeit der Thrombocyten auch bei g l e i c h e r Plättchenzahl n i c h t gewährleistet ist.

MARX (27) konnte zeigen, daß die Maximalamplitude eines Fibrin-gerinnsels im TEG auch o h n e Plättchen nur durch das Hinzufügen von S e r u m vergrößert wird.

SOKAL (29) veröffentlichte 1957 die Beobachtung, daß man gleichermaßen hohe mE-Werte erhalten kann, wenn man Fibrinogenlösungen o h n e Plättchen durch Thrombin zur Gerinnung bringt: unter der Bedingung, daß die Konzentration an Fibrinogen genügend hoch ist. Der mE-Wert variiert nicht nur in Abhängigkeit von der Fibrinogenkonzentration, sondern in gleicher Weise von der Thrombinkonzentration. Nach SOKAL (19) wird bei einer Fibrinogenkonzentration von 2500 mg % das Maximum des mE-Wertes erreicht.

Die Wirksamkeit von Serum als "Cofaktor der Reaktion Thrombin - Fibrinogen - Plättchen" (SOKAL 19) und die Beeinflussung der Maximalamplitude einer Fibrinogenlösung in A b w e s e n h e i t von Thrombocyten konnte von vielen Nachuntersuchern (u.a. MARX 27, WEINER und WEINBERG 28) bestätigt werden.

Wir glauben, daß folgende Beobachtungen von Bedeutung sind, die wir während vieler Untersuchungen machten:

Läßt man Vollblut o h n e irgendwelche Zusätze spontan in normalen, nicht silikonisierten Reagenzgläsern gerinnen, dann ist es

zunächst schon sehr auffällig, wie verschieden lang die Zeitspanne ausfällt, bis bei Zimmertemperatur die Retraktion von Gerinnseln aus Normalblut und aus Uraemikerblut eintritt:

Bei Patienten mit Uraemie dauert es nur etwa 30 - 40 Min., bis die Retraktion (für das Auge) vollständig und das Serum ausgepreßt ist bei Normalblut sind die Zeiten doppelt so lange oder noch länger. Läßt man die Reagenzgläser unter Luftabschluß stehen, bis die Thrombolyse eingetreten ist, dann fällt erneut ein großer zeitlicher Unterschied zwischen Normalblut und Uraemikerblut auf. (Die Thrombolyse wurde als vollständig erachtet, wenn für das Auge das Serum durch roten Blutfarbstoff getrübt war und der Gerinnungsthrombus nicht mehr von der umgebenden Serumflüssigkeit unterschieden werden konnte): Die Thrombolyse ist bei Patienten mit Niereninsuffizienz erheblich **v e r l a n g s a m t** im Vergleich zum Nierengesunden; d. h. die Zeitdauer bis zum Eintreten der Thrombolyse ist bei schwer Nierenkranken deutlich **v e r l ä n g e r t**, im Vergleich zu Normalblut auf etwa die **d o p p e l t e** Zeit.

1. Nachweis des FSF im Serum durch Messung der Maximalamplitude eines aus gereinigten Ansätzen entstandenen Gerinnsels im TEG:

Untersucht man thrombelastographisch die Festigkeit eines aus Fibrinogen, Thrombin und Calcium (unter Anwesenheit von Puffer) entstandenen Gerinnsels und in gleicher Weise die eines Gerinnsels unter Hinzugabe von 0,1 ml Serum und vergleicht dann die Maximalamplituden miteinander, so findet man jedesmal eine **Z u n a h m e** des mE-Wertes in den Versuchen, die mit Serum durchgeführt wurden.

Wir konnten diesen von HARTERT (30) erstmalig erhobenen Befund in allen Versuchen bestätigen. In den "Leerversuchen" (d.h. ohne Serum) wurde nur die Menge an Pufferlösung von 0,1 ml auf 0,2 ml erhöht, um das Küvettenvolumen von 0,375 ml zu erreichen; die übrigen Substratmengen blieben konstant. Das Ergebnis eines Versuches zeigt Abb. 5: (Die Größe der Säulen repräsentiert den mE-Wert).

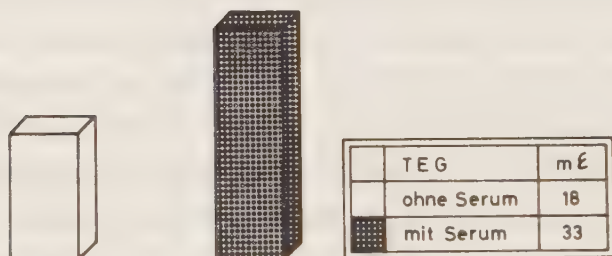


Abb. 5 Graphische Darstellung einer vergleichenden thrombelastographischen Untersuchung: ohne Serum - mit Serum.

Auch wir finden, daß die Maximalamplitude eines Gerinnsels im TEG und damit die mechanische Festigkeit durch Serum vergrößert wird. Die Zunahme der Elastizität des Gerinnsels ist durch die Aktivität

eines Eiweißkörpers im Serum bedingt, des fibrinstabilisierenden Faktors (FSF).

Die Zusammenstellung vieler Versuche haben wir in Abb. 6 graphisch wiedergegeben:

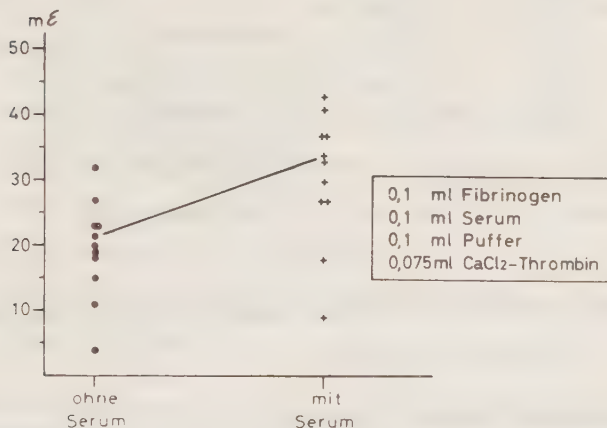


Abb. 6 Vergleichende thrombelastographische Untersuchungen:
ohne Serum - mit Serum

Um eine mögliche Beeinflussung der Maximalamplitude durch die Menge an Fibrinogen feststellen zu können, haben wir - unter Konstanthaltung aller übrigen Gerinnungssubstrate - die Fibrinogenkonzentration von 1000 - 2000 mg % variiert. Abb. 7 zeigt die Abhängigkeit des mE-Wertes von der Fibrinogenkonzentration.

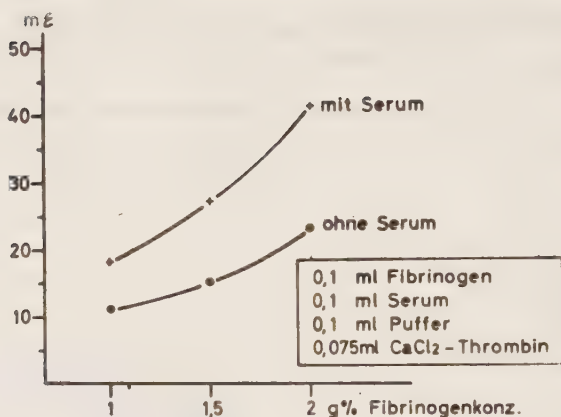


Abb. 7 Einfluß der Fibrinogenkonzentration auf den mE-Wert.
Thrombelastographie

Mit der Zunahme des Gerinnungssubstrates Fibrinogen steigt auch der mE-Wert an, aber nicht in einem linearen Verhältnis; vielmehr sind die Amplituden bei einer Fibrinogenkonzentration von 2 g % am größten, und vor allem zeigen vergleichende Untersuchungen - ohne Serum, mit Serum - daß die Differenz der mE-Werte am größten bei höchster Fibrinogenkonzentration ist.

Diese Befunde waren für uns der Anlaß, in allen weiteren Versuchen mit differenten Fragestellungen eine Konzentration von 2000 μg Fibrinogen beizubehalten.

2. Der FSF erhöht die thrombelastographisch gemessene Fibrinfestigkeit (mE-Wert).

Nachdem wir durch die zuvor beschriebenen Versuche (s. Abb. 5-7) nachgewiesen hatten, daß der im Serum vorhandene fibrinstabilisierende Faktor die thrombelastographisch gemessene Fibrinfestigkeit erhöht, wollten wir durch Ansätze im TEG die folgenden Fragen klären:

Wie verhält sich der fibrinstabilisierende Faktor im Serum von Patienten mit hochgradiger Niereninsuffizienz? Ist das Gerinnsel des Uraemikers hinsichtlich der mechanischen Belastbarkeit "minderwertig" im Vergleich zum Nierengesunden, und können wir damit die Blutungsneigung beim Uraemiker erklären?

Wir führten die Versuche in den bekannten Mengenverhältnissen durch; die Resultate waren für uns anfänglich jedoch so überraschend, daß wir experimentelle Mängel zur Erklärung der für uns zunächst "falschen" Ergebnisse annahmen. Doch alle weiteren Untersuchungen führten zu dem gleichen Ergebnis:

Der mE-Wert eines Gerinnsels, das unter Hinzufügen von Uraemiker-Serum entstanden ist, ist g r ö ß e r als der eines Gerinnsels mit Serum eines Gesunden. D.h.: die Gerinnselelastizität ist bei Uraemiekranken e r h ö h t im Vergleich zu nierengesunden Personen. Abb. 8 zeigt eine vergleichende Untersuchung; die Höhe der Säulen ist Ausdruck der Maximalamplituden:



Abb. 8 Vergleichende Untersuchung mit Serum von nieren-
gesunden und uraemischen Patienten. Thrombelastographie

Da wir mit gereinigten Gerinnungsansätzen gearbeitet haben und die Konzentrationen der einzelnen Substrate gleich groß waren, muß die Zunahme der Kurvenbreite im TEG durch den fibrinstabilisierenden Faktor des Uraemikerserums bedingt sein.

Eine Zusammenfassung vieler vergleichender Untersuchungen mit Normalserum und Uraemie-Serum zeigt die folgende graphische Darstellung: In Abb. 9 sehen wir nochmals deutlich, daß der fibrinstabilisierende Faktor bei der Niereninsuffizienz erhöht ist!

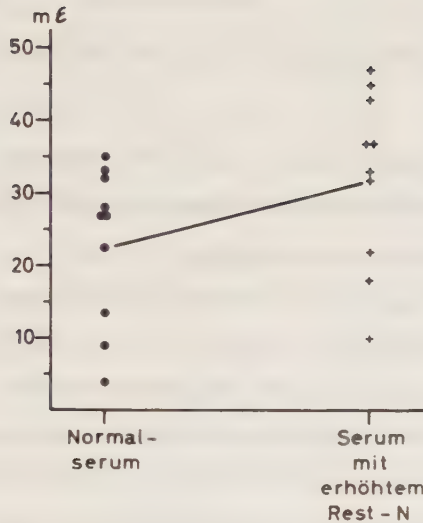


Abb. 9

Wir müssen also feststellen, daß wir

1. thrombelastographisch **keine** Erklärung für die Blutungsneigung des Uraemikers finden konnten, und daß wir
2. bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz die biologische Aktivität des fibrinstabilisierenden Faktors deutlich **erhöht** fanden im Vergleich zum Gesunden.

Welche Erklärung haben wir für dieses Phänomen?

ad 1: Vielleicht ist die im Thrombelastogramm meßbare, besonders **große mechanische Belastbarkeit des Gerinnsels** beim Uraemiker als ein kompensatorischer Mechanismus aufzufassen, den

der Körper ergreift, um der durch andere Ursachen bedingten erhöhten Blutungsbereitschaft entgegenzuwirken. Teleologisch gesehen, nämlich um Blutungsquellen möglichst gut zu verschließen, erscheint diese Regulation als Reaktionsmechanismus durchaus sinnvoll!

ad 2: Wir haben nach Auswertung unserer Versuche die Feststellung getroffen: Der fibrinstabilisierende Faktor im Serum ist bei Patienten mit Niereninsuffizienz erhöht!

Dabei gilt es jedoch zu bedenken, daß wir nur über ziemlich unzulängliche, indirekte Methoden verfügen, um Aussagen über den FSF machen zu können. Eine Methode, um absolute Werte über die Konzentrationen oder Aktivitäten des FSF zu erhalten, gibt es bis heute nicht! Deshalb müssen wir unsere obige Feststellung etwas modifizieren, indem wir sagen:

Die biologische Aktivität (- und als Ausdruck dieser messen wir die Maximalamplitude im TEG -) des fibrinstabilisierenden Faktors ist im Serum von Patienten mit Niereninsuffizienz erhöht.

Rein theoretisch ist dieses Ergebnis durch folgende Möglichkeiten erklärbar:

1. Ein physiologischerweise vorhandener Hemmkörper ist durch die Uraemie-bedingten Stoffwechselveränderungen vermindert
(a: die Synthese des Inhibitors kann gehemmt sein;
b: seine Aktivität gegenüber dem FSF kann vermindert sein),

sodaß die Wirksamkeit des FSF besser zur Entfaltung kommt. Wir können in diesem Fall sogar annehmen, daß der absolute Spiegel im Serum normal (!) hoch ist.

2. Nehmen wir als Ort der Synthese des FSF die Nieren an (noch durch nichts bewiesen), dann wäre es denkbar, daß die Nieren durch eine gesteigerte Synthese-Aktivität der gesteigerten Blutungsneigung entgegenzuwirken versuchen.
3. Wollen wir die unter 1. und 2. erörterten Möglichkeiten ablehnen, dann könnten wir folgende Überlegung anführen: Die besondere Stoffwechsellage im Körper des Uraemikers mit der Retention an fixen Säuren und anderen harnpflichtigen Substanzen führt zu einem (physiologischerweise nicht vorhandenen) Wirkungsoptimum für den fibrinstabilisierenden Faktor, sodaß die Ausbildung des Fibrin-FSF-Copolymers besonders begünstigt wird.

Nach diesen theoretischen Erörterungen wollen wir uns wieder dem Experimentellen zuwenden:

Um unsere mit Serum gewonnenen Ergebnisse zu überprüfen, haben wir anschließend thrombelastographische Untersuchungen mit Uraemiker - Vollblut und (zum Vergleich) mit Vollblut von nierengesunden Patienten durchgeführt. Die Ergebnisse waren noch eindrucksvoller (s. Abb. 10): Wir fanden:

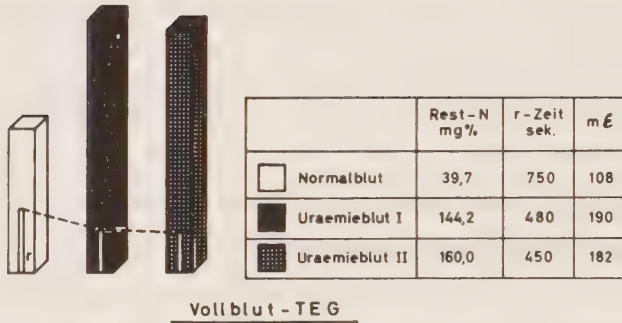


Abb. 10 Graphische Darstellung der mE-Werte eines Gesunden und zweier Uraemiker. Vollblut-Thrombelastogramm

1. Die r-Zeit von Uraemiker-Blut ist im Vergleich zur gesunden Versuchsperson signifikant v e r k ü r z t ! (s. die Stäbe in den Säulen der Abb. 10) und
2. der mE-Wert und damit die mechanische Belastbarkeit des Gerinnsels ist beim Uraemiker stark v e r g r ö ß e r t im Vergleich zum Gesunden!

Abb. 11 zeigt das Original-Thrombelastogramm eines Versuchs mit Vollblut eines Uraemiepatienten; der Rest-N betrug $144,2 \text{ mg } \%$ im Serum.

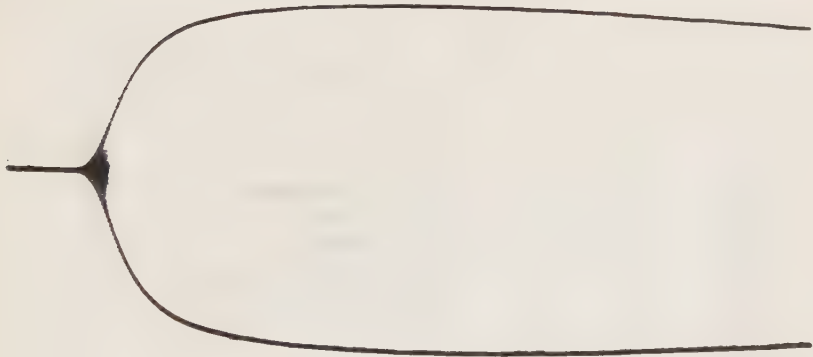


Abb. 11 Original-Thrombelastogramm

Besonders auffällig ist die enorme Kurvenbreite und als Ausdruck dieser der mE-Wert: er beträgt 190!

Abschließend wollen wir nochmals betonen:

Es kann als gesichert gelten, daß im Serum von Patienten mit Niereninsuffizienz die biologische Aktivität des fibrinstabilisierenden Faktors **g e s t e i g e r t** ist!

3. Die Abhängigkeit des mE-Wertes von unterschiedlichen Serummengen.

Zum Abschluß unserer Versuche mit S e r u m untersuchten wir die Abhängigkeit des mE-Wertes von der zugesetzten Serummenge. Für N o r m a l b l u t ergibt sich, wie Abb. 12 zeigt, das Maximum der Kurvenamplituden bei einer Serummenge von 0,1 ml pro Küvette,

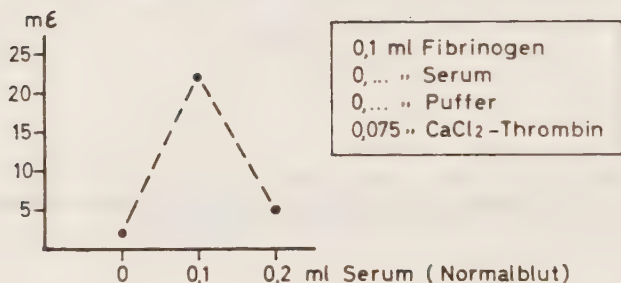


Abb. 12 Abhängigkeit des mE-Wertes von der Serummenge.
Normalblut

während bei Zugabe der doppelten Menge Serum, aber auch o h n e Serum, die mE-Werte vergleichsweise sehr klein ausfallen. Offenbar ist ein bestimmtes Volumen an Pufferlösung zur Entfaltung der Aktivität des FSF nötig, während eine zu große Serummenge h e m m e n d wirkt.

Im Gegensatz dazu fanden wir für U r a e m i k e r b l u t den größten mE-Wert erst bei einer Serummengende von 0,2 ml; mit Abnahme der Serummengende wurde auch die Maximalamplitude kleiner (s. Abb. 13).

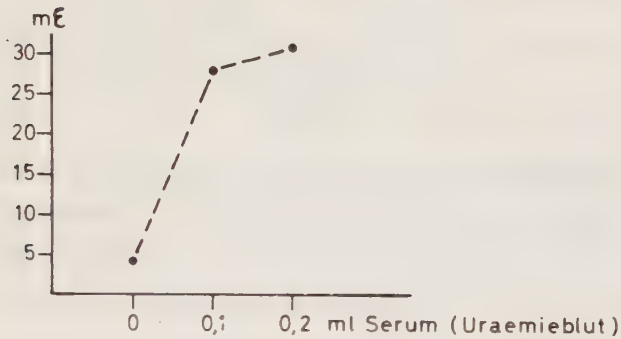


Abb. 13 Abhängigkeit des mE-Wertes von der Serummengende.
Uraemikerblut

3) Zur Frage der Existenz des fibrinstabilisierenden Faktors
im Urin

Nachdem wir durch die Untersuchung von B l u t deutliche Unterschiede in der Gerinnsel-"Qualität" und in der Aktivität des fibrinstabilisierenden Faktors bei Nierengesunden und bei Uraemikern feststellen konnten, lag es nahe, Versuche auch mit U r i n durchzuführen, um möglicherweise in dem Endprodukt der Nieren Unterschiede in der Gerinnungsaktivität bei Gesunden und Patienten mit Niereninsuffizienz zu finden.

Durch neuere Untersuchungen von v. KAULLA u. Mitarb. (37) konnte im menschlichen Harn eine starke gerinnungsfördernde, thromboplastische Aktivität nachgewiesen werden. Uns interessierte vor allem die Frage: Beeinflußt die Zugabe von Urin den Ablauf der Gerinnung in gereinigten Systemen, und finden sich Unterschiede in der Gerinnsel-"Qualität"?

Wir führten deshalb zunächst Versuche im Thrombelastographen durch, um die Gerinnselbildung in gereinigten Systemen unter Zugabe von Urin von gesunden Versuchspersonen (sog. "Normalurin") studieren zu können. Im Prinzip haben wir zwei Gruppen von Versuchen unterschieden:

1. Versuche mit unbehandeltem Urin und
2. Versuche mit dialysiertem Urin.

(Über die Technik der Dialyse wird an anderer Stelle berichtet).

a) Thrombelastographische Untersuchungen:

Durch viele Versuche haben wir die Mengen an den einzelnen Substraten bestimmt. Der Ansatz für die Untersuchung von U r i n im TEG lautet:

0,100 ml Fibrinogenlösung, 2000 mg %

0,150 ml Puffer

0,050 ml Urin

0,075 ml CaCl₂-Thrombin

0,375 ml pro Kuvette

Wenn man ein System aus gereinigten Gerinnungsansätzen unter Zugabe von Normalurin zur Gerinnung bringt und die Maximalamplitude mit der Kurvenbreite des "Leerwertes" (= ohne Urin) vergleicht, so fällt auf, daß das Gerinnsel m i t Urin nie die mechanische Festigkeit eines Gerinnsels erreicht, das o h n e Urin entstanden ist. Abb. 14 zeigt dieses Ergebnis; die Höhe der Säulen entspricht der Größe des mE-Wertes.

Das Resultat vergleichender Untersuchungen über die mE-Werte von Gerinnseln, die mit Urin von Uraemiekranken und mit Urin von nieresunden Personen entstanden, zeigt die Abb. 15; die Größe der Säulen repräsentiert den mE-Wert.

Wir finden: Der mE-Wert wird durch Zugabe von Uraemikerurin g r ö s s e r als bei Verwendung von Normalurin!

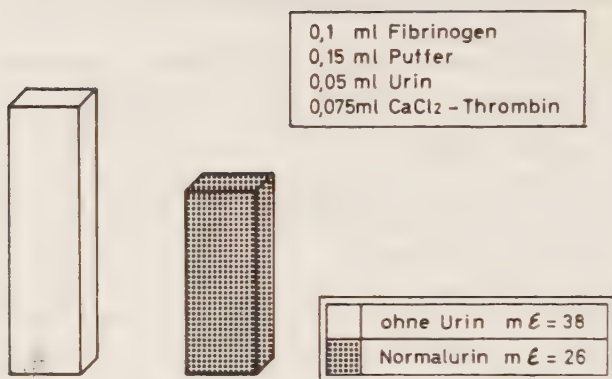


Abb. 14 Thrombelastographie. Vergleichende Untersuchungen:
ohne Urin - mit Urin

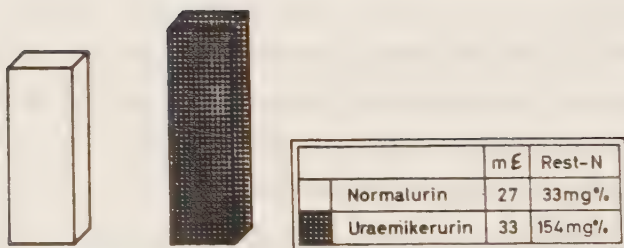


Abb. 15 Graphische Darstellung vergleichender Untersuchungen mit Normal- und Uraemikerurin. Thrombelastographie

In Abb. 16 haben wir das Ergebnis mehrerer vergleichender Versuche dargestellt:

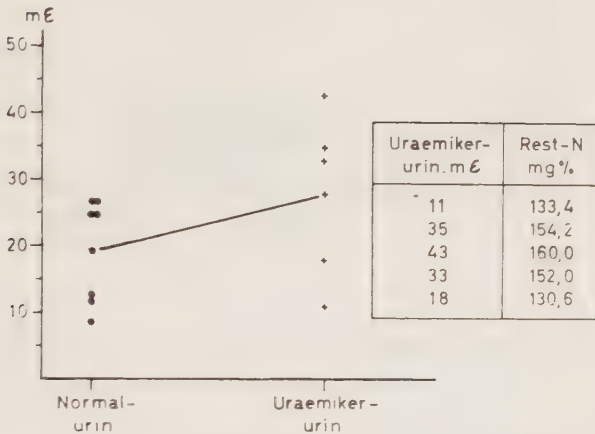


Abb. 16

Auch hier wird die Zunahme des mE-Wertes durch Uraemiker-urin deutlich im Vergleich zu Normalurin.

Wir zeigen in der nächsten graphischen Darstellung (Abb. 17) zum Vergleich die Größe der Maximalamplituden von Gerinnseln, die ohne Urin, mit Normalurin und mit Uraemikerurin entstanden sind. Auffällig ist dabei, daß auch durch Zusatz von Urin eines Uraemikers der mE-wert und damit die mechanische Belastbarkeit des Gerinnsels niedriger bleibt als bei einem Gerinnsel, das ohne Urin-Zusatz entstanden ist.

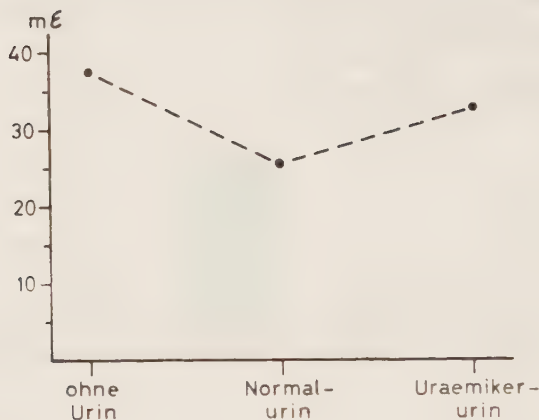


Abb. 17 Maximalamplituden von Gerinnseln ohne Urin, mit Normal- und mit Uraemikerurin. Thrombelastographie

Wenn man häufiger mit Urin von Patienten mit erheblicher Niereninsuffizienz arbeitet, dann überrascht immer wieder die Farbe des Urins: Im Vergleich zum Nierengesunden ist er auffallend hell und ungefärbt. Bedingt ist diese Hypochromurie durch:

1. eine ungenügende Ausscheidung von Chromogenen und
2. dadurch, daß diese farblosen Vorstufen der Harnfarbstoffe von der insuffizienten Niere nicht mehr ausreichend oxydativ umgewandelt werden können.

Die thrombelastographisch aufgezeichneten Kurven der Gerinnselbildung mit Normalurin sind so charakteristisch, daß wir im folgenden eine Originalkurve (Abb. 18) bringen:



Abb. 14

Wie verändert sich der mE-Wert in Abhängigkeit von der zugesetzten
Urinmenge?

Untersucht man bei konstanter Fibrinogenmenge den Einfluß
von Harn auf die mechanische Gerinnselfestigkeit, so findet
sich thrombelastographisch eine deutliche Abhängigkeit der Kur-
venbreite von der Urinkonzentration:

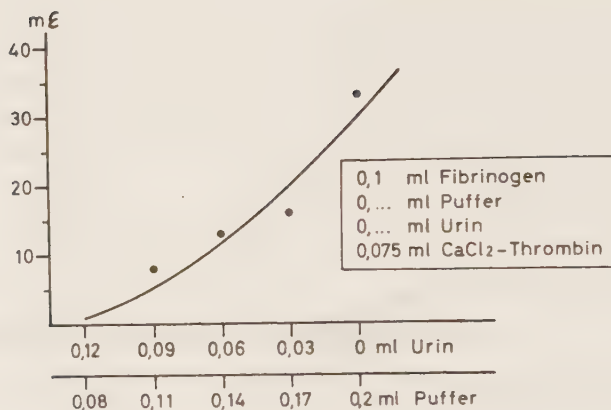


Abb. 19 Der Einfluß von Nativ-Urin auf die Gerinnse-
festigkeit künstlicher Gerinnungsansätze. Thromb-
elastographie

Bei hoher Urinkonzentration liegen die mE-Werte sehr niedrig; mit abnehmender Urinmenge steigt die Kurvenbreite im TEG an und erreicht ihr Maximum, wenn das Gerinnsel o h n e (!) Urin gebildet wird. D.h.: Durch den Zusatz von Nativ-Urin wird die Struktur des sich bildenden Fibringerinnsels so beeinflusst, daß der mE-Wert im TEG abnimmt!

Anders ausgedrückt: Bei der durch Thrombin hervorgerufenen Gerinnung in gereinigten Systemen führt die Anwesenheit von Urin zum Wirksamwerden eines gerinnungshemmenden Prinzips, dessen Aktivität von der Urinkonzentration abhängt.

Welche Erklärung haben wir für diese Versuchsergebnisse?

Die thrombelastographischen Kurven (s. Abb. 14 - 19) lassen bei oberflächlicher Betrachtung den Schluß zu, daß - allgemein gesagt - die Zugabe von Urin bei gleicher Fibrinogenmenge die Ausbildung der Fibrinstruktur hemmt, sodaß die mechanische Belastbarkeit des Gerinnsels verringert erscheint. Denn sowohl mit Normalurin als auch mit Uraemikerurin verkleinert sich der mE-Wert im Vergleich zu einem Gerinnsel, das o h n e Urin entstanden ist.

Bei näherer Analyse kommen wir jedoch zu einer ganz anderen Deutung unserer Ergebnisse, deren Richtigkeit sich auch experimentell beweisen läßt:

Seit 1947 wissen wir, daß auch der Urin eine bestimmte fibrinolytische Aktivität besitzt (34). ASTRUP und STERNDORFF zeigten, daß es sich hierbei um einen Aktivator der Fibrinolyse handelt, der als Urokinase bezeichnet wird, und der die Umwandlung von Plasminogen zu Plasmin bewirkt (35, 36). Die Urokinase ist n i c h t das enzymatische Endprodukt der Fibrinolyseaktivierung.

Urokinase-Aktivitäten lassen sich im Urin von Nierengesunden und von Patienten mit schwerer Niereninsuffizienz nachweisen; neuere Untersuchungen zeigten jedoch, daß die Urokinase-Aktivität im Uraemikerurin v e r m i n d e r t ist (39)! FREY und JÜRGENS (33) fanden in jüngster Zeit, daß der Urin mehrere Substanzen enthält, die in das Gerinnungssystem aktiv eingreifen.

Wenn wir nach Zusatz von Urin durch Calcium-Thrombin-Lösung die Gerinnung einleiten, dann laufen gleichzeitig zwei Vorgänge n e b e n e i n a n d e r her:

1. Es beginnt die Gerinnung durch Umwandlung von Fibrinogen in Fibrin unter Ausbildung der ersten Fibrinfäden;
2. Gleichzeitig mit der Gerinnung setzt jedoch auch die Fibrinolyse ein, indem die im Urin enthaltene Urokinase das im Fibrinogen in genügender Menge vorhandene Plasminogen zu Plasmin aktiviert.

Das Fibrinolysin baut einen Teil der frisch gebildeten Fibrin-
teilchen fermentativ zu kleineren Bruchstücken ab und greift
wahrscheinlich auch Fibrinogenmoleküle an, bevor diese in Fi-
brin umgewandelt und vernetzt worden sind. Dadurch kommt es mit
Zunahme der Gerinnungsdauer zu einer immer stärkeren Abnahme des
Gerinnungssubstrates Fibrinogen durch die Urokinase-Aktivität
und damit auch nur zu einer mangelhaften Ausbildung des Fi-
bringerinnsels. Die Folge ist eine meßbare Abnahme der Maximal-
amplituden im Thrombelastogramm bei Zusatz von Urin!

Hemmung der fibrinolytischen Aktivität im Urin durch E-Aminocaprinsäure

Um unsere oben dargelegte Annahme zu stützen, daß nämlich die durch Urokinase aktivierte Fibrinolyse auf enzymatischem Wege das neugebildete Fibrin spaltet, versuchten wir die fibrinolytische Aktivität im Urin zu hemmen: Durch Zusatz von E-Aminocaprinsäure (38). Die antifibrinolytische Wirkung dieser Substanz beruht auf dem hemmenden Einfluß auf die Aktivierung von Plasminogen zu Plasmin. Diese Hemmwirkung erstreckt sich auch auf die Urokinase-Aktivität des Harnes.

Nach Zusatz von E-Aminocaprinsäure (=EACA)* sieht man deutlich, wie - von einem bestimmten Verhältnis Urin: EACA an - die mE-Werte im Thrombelastogramm ansteigen und schließlich sogar die Kurvenbreite eines Gerinnsels ohne (!) Urin übertreffen. (Wie sich die Hemmung der Fibrinolyse im Nativurin auf den mE-Wert auswirkt, zeigt die Abb. 20):

Wir finden: Ein Gerinnsel, das aus gereinigten Ansätzen unter Zusatz von Urin entstanden ist, zeigt einen mE-Wert von 22 (s. linke Säule); ersetzt man nun den Urin durch ein Urin-EACA-Gemisch**, dann vergrößert sich der mE-Wert auf 33 (s. rechte Säule). Erhöht man die EACA-Konzentration im Urin-EACA-Gemisch, so läßt sich eine mE-Zunahme nicht sicher nachweisen (s. mittlere Säule).

* verwandt wurde E-Aminocaprinsäure "Roche"

** Urin und EACA im Verhältnis 10:1

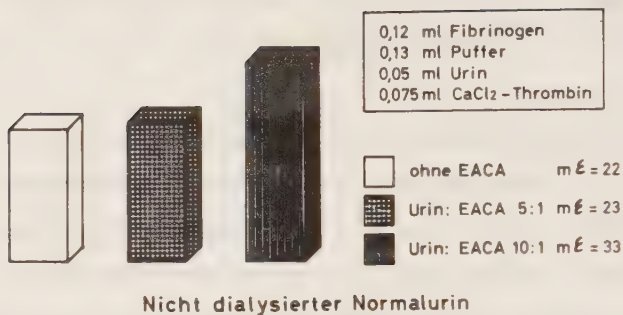


Abb. 20 Der Einfluß von EACA auf den mE-Wert von Gerinn-
seln mit Nativ-Urin. Thrombelastographie

Die Ergebnisse einer anderen Versuchsreihe mit höherer Thrombin-
konzentration zeigt die folgende Tabelle:

	ohne Urin	mit Nativ-Urin	mit dialysiertem Urin
mE	39	33	35

	mit Nativ-Urin	mit Urin: EACA = 5 : 1	mit Urin: EACA = 15 : 1
mE	33	41	52

Es zeigt sich also deutlich, daß die Hemmung der fibrinolytischen
Aktivität im Urin durch E-Aminocaprinsäure zu einer Verbesserung
der Fibrinstruktur bzw. der mechanischen Belastbarkeit des ent-
stehenden Gerinnsels führt, - gemessen an der Größe des mE-Wertes!

Diese Befunde sprechen dafür, daß der Urokinase-bedingten fibrinolytischen Aktivität des Urins eine erhebliche Bedeutung als Hemmfaktor für die normale Fibrinpolymerisation zukommt.

Der Ansatz in der Küvette lautete für diese Versuche:

0,120 ml Fibrinogen, 2000 mg %
0,130 ml Puffer
0,050 ml Urin (bzw. Urin-EACA-Gemisch)
0,075 ml CaCl_2 -Thrombin

Welchen Einfluß hat die Verwendung von dialysiertem Urin mit
EACA-Zusatz auf den mE-Wert?

Dialyse des Urins: Der Dialyse-Harn wurde stets aus dem frisch gelassenen Urin von gesunden Versuchspersonen hergestellt:

Eine konstante Menge Urin (40 ml) wird in einen Dialyse-Schlauch gefüllt und dieser durch einen Labor-Rotator unter fließendem Wasser kontinuierlich bewegt; dadurch besteht dauernd ein optimales Konzentrationsgefälle für diffusible Substanzen. Dialyse-Dauer: 2 1/2 Stunden.

Zunächst müssen wir uns in Erinnerung rufen, daß auch bei Verwendung von dialysiertem Urin die mE-Werte niedriger liegen als die eines Gerinnsels, das ohne Urin entstanden ist.

	ohne Urin	mit dialysiertem Urin
mE	39	35

Wir wissen durch die Untersuchungen von FREY und JÜRGENS (22), daß die Urokinase-Aktivität im d i a l y s i e r t e n Urin viel geringer ist als im Nativ-Urin.

Deshalb interessierte uns die Frage: Wie verändert sich der mE-Wert im TEG, wenn man dem dialysierten Urin EACA zusetzt?

	mit Dialyse-Urin	mit Dialyse-Urin und EACA: 10 : 1	mit Dialyse-Urin und EACA: 15 : 1
mE	35	37	43

Obige Tabelle zeigt, daß auch bei dialysiertem Urin die Hemmung der Urokinase-Aktivität zu einer Vergrößerung des mE-Wertes führt. Mit stärkerer Verdünnung der E-Aminocaprinsäure (z.B.: Urin: EACA = 25 : 1 bzw. 50 : 1) nimmt die Maximalamplitude im TEG wieder ab, ebenso wie mit größerer Konzentration (Urin: EACA = 5 : 1).

Diese Ergebnisse lassen den Schluß zu, daß durch die Urokinase-Hemmung ein vorzeitiger Abbau an schon gebildetem Fibrin und an Fibrinogen unterbleibt; dadurch kommt die durch die Dialyse geförderte thromboplastische Aktivität des Urins besser zur Wirkung, und die Fibrinpolymerisation kann ungestört ablaufen.

Nephelometrische Untersuchungen über den Einfluß des Urins auf die Fibrinstruktur in gereinigten Ansätzen

Im Anschluß an unsere thrombelastographischen Studien haben wir den Ablauf der Gerinnung bei Zusatz von Urin auf lichtoptischem Wege - nephelometrisch - verfolgt. Die Prinzipien der Streulichtmessung nach EBBECKE und KNÜCHEL (32) wurden an anderer Stelle erläutert.

Das optisch ausnutzbare Küvettenvolumen beträgt ca. 3 ml; wir mußten deshalb durch Vorversuche den richtigen Ansatz ausprobieren. Er lautet für die Küvette im Photometer:

0,2 ml Fibrinogenlösung, 2000 mg %

2,0 ml Puffer

0,2 ml Urin

1,0 ml CaCl_2 -Thrombin

3,4 ml

Die Puffermenge (2,0 ml!) ist im Vergleich zur Urinmenge (nur 0,2 ml!) deshalb so groß, weil wir wenigstens e i n e n Ungenauigkeitsfaktor, - das pH des Urins schwankt aus vielerlei Gründen (Nahrung!) in erheblichem Maße - , möglichst klein halten wollten.

Unsere ersten Versuche sollten uns Aufschluß auf die Frage geben, inwieweit die Gerinnselstruktur beeinflußt wird, wenn man einem Gerinnungsansatz Normal-Urin zusetzt. Wie ändern sich dabei die (nephelometrisch meßbaren) Gerinnsel-eigenschaften? Um einen Vergleichswert zu bekommen, schrieben wir immer zuerst als "Nullwert" die Kurve eines Gerinnsels o h n e Urin.

Bei konstanter Fibrinogenmenge bewirkt der Zusatz von Urin von gesunden Versuchspersonen in allen Versuchen eine **A b n a h m e** der Kurvenbreite, d.h.: eine Verminderung der Streulichtintensität (s. Abb. 21). Zusatz von Urin wirkt also **h e m m e n d** auf ΔE !

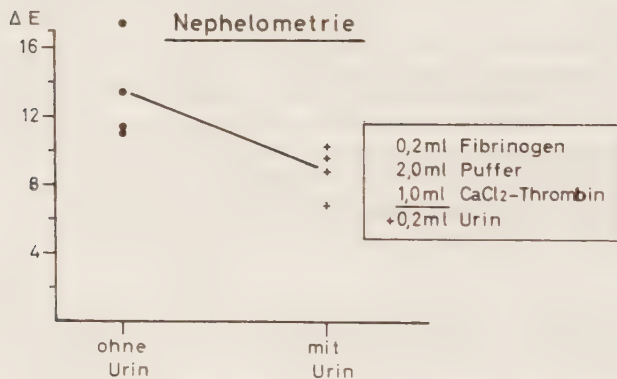


Abb. 21 Vergleichende nephelometrische Untersuchungen:
ohne Urin - mit Normalurin

Da bei der Streulichtmessung der Wert ΔE der Menge des gebildeten Fibrins entspricht (32), die Fibrinogenkonzentration jedoch konstant war, spricht die Abnahme von ΔE bei Zusatz von Nativurin für eine Veränderung der Fibrinstruktur!

Wir können also folgern, daß Zusatz von Normalurin die Ausbildung der Gerinnselstruktur und damit auch die Festigkeit des Gerinnsels **h e m m t** ! Möglicherweise handelt es sich dabei um

einen besonderen Urinfaktor, der die Polymerisationsvorgänge während der Fibringerinnung hemmt (33).

Vergleichen wir die Kurvenbreiten von Gerinnseln mit Normalurin und mit Urin von Uraemiepatienten, so zeigt sich, daß Uraemikerurin eine **V e r g r ö ß e r u n g** der Kurvenbreite bewirkt; d.h. die Struktur des Gerinnsels wird durch Zusatz von Uraemikerurin verbessert im Vergleich zu Normalurin (s. Abb. 22).

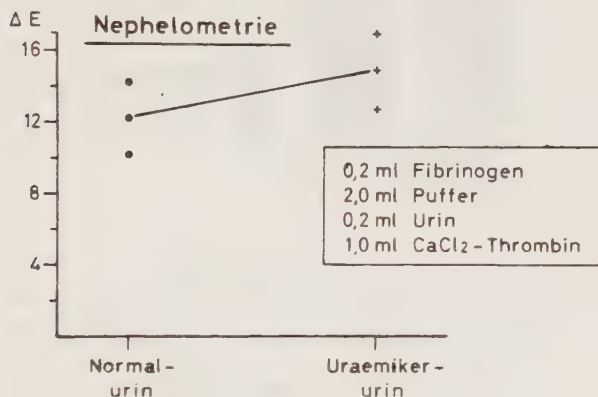


Abb. 22 Vergleichende Untersuchungen: Normalurin - Uraemikerurin. Nephelometrie

Die graphische Darstellung der Abb. 23 zeigt die in den beiden vorigen Abbildungen dargestellten Einzelergebnisse in ihren absoluten Größenverhältnissen zueinander. Wichtig ist, daß die Zunahme

der Kurvenbreite (im Vergleich zu Normalurin) durch Uraemiker-
urin trotzdem noch **u n t e r (!)** der absoluten Größe des Null-
wertes (d.h. ohne Urin) bleibt!

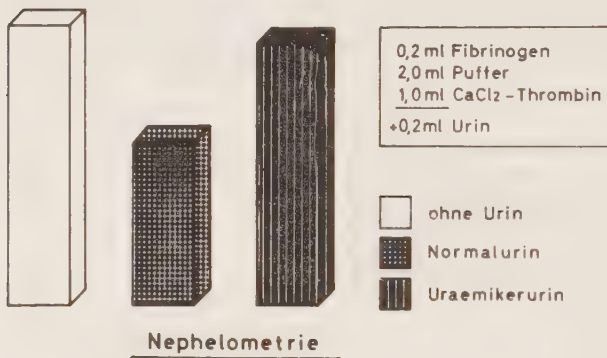


Abb. 23 Vergleichende nephelometrische Untersuchungen:
ohne Urin - mit Normalurin - mit Uraemikerurin.
Die Größe der Säulen repräsentiert den Wert. ΔE

Über den Einfluß steigender Urinmengen auf den Gerinnungsvorgang und die nephelometrisch meßbaren Größen ΔE und rt : Vergleichende Untersuchungen mit Urin von Gesunden und Nierenkranken.

Diese Versuche sollten Aufschluß auf die Frage geben, ob steigende Volumina an Normalurin bzw. Uraemikerurin zu Änderungen der Kurvenbreiten führen. In allen Versuchen betrug das Küvettenvolumen 3,0 ml; die Menge an Fibrinogen und Thrombin-Calcium war konstant; d.h. mit zunehmender Urinmenge wurde das Volumen an Puffer kleiner.

Wir stellten zwei Gruppen von Versuchsreihen auf:

1. Versuche mit nicht dialysiertem Urin und
2. Versuche mit dialysiertem Urin

Das Ergebnis vergleichender Untersuchungen mit nicht dialysiertem Urin von Gesunden und Nierenkranken zeigt die Abb. 24. (Die Werte für ΔE in mm):

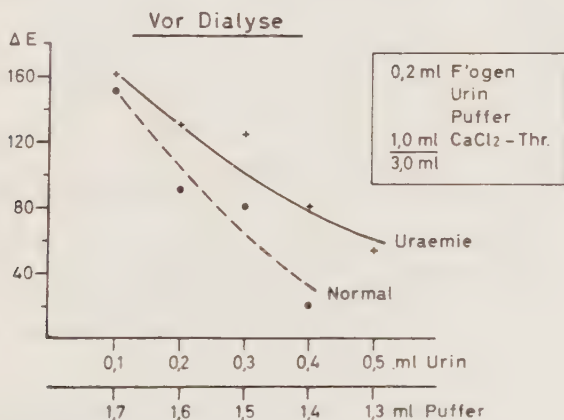


Abb. 24 Der Einfluß steigender Urinvolumina auf ΔE bei Streulichtmessung von gereinigten Ansätzen. Vergleich von Normal- und Uraemikerurin.

Wir finden, daß mit steigender Urinkonzentration - dies gilt für Normalurin ebenso wie für Uraemikerurin - die Kurvenbreite ΔE abnimmt. Bei allen Harnvolumina liegt die Kurve für "Normalurin" u n t e r der für "Uraemikerurin"; mit zunehmender Urinkonzentration erhöht sich die Differenz in den Kurvenbreiten.

Steigende Urinmengen rufen - bei konstanter Fibrinogenkonzentration - eine deutlich meßbare Verkleinerung von ΔE hervor. Wir können daraus auf eine Hemmwirkung des Urins schließen, die mit steigenden Urinvolumina stärker hervortritt, und die zu einer Änderung der Fibrinstruktur führt. Sehr wahrscheinlich handelt es sich dabei um eine Polymerisationsstörung unter dem Einfluß von Urin (33).

Welchen Einfluß die Dialyse des Urins auf ΔE hat, zeigt die folgende Abb. 25:

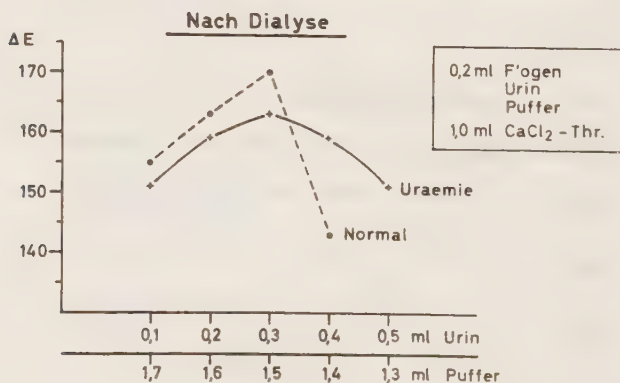


Abb. 25 Der Einfluß steigender Urinvolumina auf ΔE bei Streulichtmessung. Vergleich von dialysiertem Normal- Uraemikerurin.

Vergleicht man den Kurvenverlauf nach Dialyse mit der vorigen Abbildung 24, so zeigen sich einige überraschende Veränderungen:

1. Zunächst fällt auf, daß die maximalen ΔE -Werte in beiden Kurven nicht bei einem Harnvolumen von 0,1 ml erreicht werden; vielmehr steigt mit zunehmendem Urinvolumen zunächst auch die Kurvenbreite (=optimale Streu-Intensität) an und erreicht bei 0,3 ml Urin ihr Maximum. Erst bei noch größeren Urinmengen nehmen die entsprechenden Werte wieder ab!
2. Die Maximalwerte der Kurven liegen bei Verwendung von dialysiertem Urin höher (!) als bei nicht dialysiertem Urin. Die ΔE -Werte zeigen dagegen bei Zusatz von Dialyse-Harn wesentlich geringere Schwankungen als bei nicht dialysiertem Urin (vergl. Abb. 24).
3. Die Kurve für "Normalurin" verläuft bis zu einem Harnvolumen von 0,3 ml über der für Uraemikerurin; d.h. nach vorangegangener Dialyse wird die Fibrinstruktur und damit die Festigkeit des Gerinnsels durch Zusatz von Normalurin (bis zu einem Volumen von 0,3 ml) so beeinflusst, daß die ΔE -Werte höher liegen als mit Uraemikerurin. Erst bei noch größeren Harnvolumina kehrt sich die Lage der beiden Kurven zueinander um!

Aus diesen Ergebnissen läßt sich schließen, daß durch den Vorgang der Dialyse bestimmte Substanzen entfernt werden, die im nicht dialysierten Urin eine hemmende Wirkung auf die richtige Ausbildung der Fibrinstruktur und damit auch auf die Größe des ΔE -wertes ausüben. Der Hemmeffekt dürfte in erster Linie auf die durch verschiedene Elektrolytkonzentrationen bedingte Osmolarität des nicht dialysierten Urins zurückzuführen sein.

FREY und JÜRGENS (33) zeigten, daß im Normalurin nach Dialyse eine thromboplastische Aktivität vorliegt, "die in direkter Abhängigkeit zu seiner Konzentration steht."

Außerdem wurde nachgewiesen, daß durch Dialyse mehr als zwei Drittel der Urokinase-Aktivität des Harnes verlorengehen (33). Infolgedessen verläuft die Urokinase-bedingte Plasminogen-Plasmin-Umwandlung nach der Dialyse sehr verlangsamt. Dadurch bleibt eine vorzeitige fibrinolytische Zerstörung des Fibrins - und möglicherweise des Fibrinogens - weitgehend aus, und die volle Menge des Substrates Fibrinogen steht zur Fibrinpolymerisation zur Verfügung.

Durch diese Erkenntnisse wird es verständlich, daß die Werte für ΔE - bei gleicher Fibrinogenkonzentration - mit Dialyse-Harn größer werden als mit nicht dialysiertem Urin; die Dialyse-bedingte Elimination hemmender Substanzen führt zusammen mit der thromboplastischen Aktivität des Dialyse-Urins zu einer Vergrößerung der optimalen Streu-Intensität, die durch die geringe fibrinolytische Aktivität im Urin begünstigt wird.

Interessant ist die Abhängigkeit der Reaktionszeit r_t von der zugesetzten Urinmenge und die unterschiedliche Beeinflussung durch Normal- bzw. Uraemikerurin (s. Abb. 26).

Bei konstanter Fibrinogenkonzentration führen steigende Volumina an Normalurin zu einer **V e r l ä n g e r u n g** der Reaktionszeit.

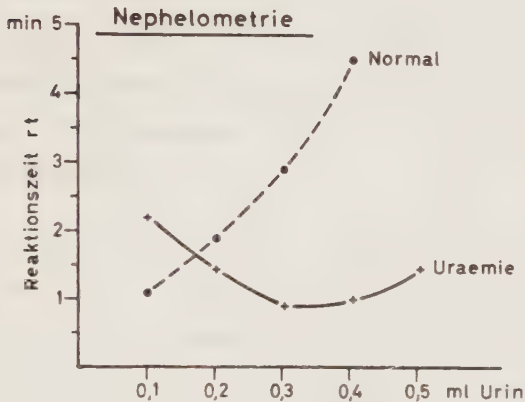


Abb. 26 Die Abhängigkeit der Reaktionszeit r_t von der Urinmenge. Vergleich: Normal- und Uraemikerurin. Nephelometrie

Durch Normalurin wird also ein Hemmeffekt auf r_t ausgeübt!

Bei Zusatz von Uraemikerurin dagegen wird die Reaktionszeit bis zu einem Harnvolumen von 0,3 ml **v e r k ü r z t**; erst bei noch größeren Urinmengen steigt der r_t -Wert wieder leicht an.

Wahrscheinlich sind die zeitlichen Abstände, die - nach Zusatz von Urin - bis zum Beginn der Gerinnung verstreichen, durch unterschiedliche Konzentrationen an Acceleratoren und Inhibitoren der 1. Phase der Gerinnung bedingt; die Verlängerung des rt -Wertes durch steigende Volumina an Normalurin muß nach (33) im Sinne einer Hemmung der Thrombin-Bildung angesehen werden.

F.: Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit gliedert sich in einen theoretischen und einen experimentellen Teil. Nach einer Einführung in den Fragenkomplex und Erläuterung der Problemstellung wird auf die Bedeutung der Gerinnselbildung im Rahmen der Haemostase eingegangen. Anschließend werden die einzelnen zur Gerinnselbildung notwendigen Faktoren dargestellt und die physiologische Bedeutung eines besonderen Eiweißkörpers im Blut, des fibrinstabilisierenden Faktors (FSF), ausführlich erläutert. Nach kurzer Beschreibung der Untersuchungsmethoden beginnt der experimentelle Teil:

Zur Klärung der Frage, ob die erhebliche Blutungsneigung bei Patienten mit länger bestehender Uraemie durch eine Abnahme des fibrinstabilisierenden Faktors im Blut und eine dadurch bedingte "Minderwertigkeit" der mechanischen Eigenschaften des Gerinnsels hervorgerufen wird, führten wir thrombelastographische und nephelometrische Untersuchungen mit Vollblut, Serum und Urin durch.

Die maximale Kurvenbreite im Thrombelastogramm und damit der ME-Wert ist ein Maß für die Festigkeit und mechanische Belastbarkeit des Gerinnsels. Die Amplitude der Kurven im TEG ist grundsätzlich von mehreren Faktoren abhängig:

1. von der Konzentration an dem Substrat der Gerinnung Fibrinogen,
2. von der Zahl und Funktionstüchtigkeit der Blutplättchen,
3. von der Thrombin- und Calciummenge und
4. von der Menge bzw. Aktivität des fibrinstabilisierenden Faktors (FSF) im Serum.

Um Veränderungen einer dieser Komponenten erfassen zu können, müssen die übrigen Faktoren konstant gehalten werden. Unter Beachtung dieser Voraussetzungen kamen wir zu folgenden Ergebnissen:

- a) Fügt man zu einem Gerinnungsansatz aus gereinigten Systemen Serum eines Gesunden hinzu, dann zeigt sich thrombelastographisch eine Vergrößerung des mE-Wertes im Vergleich zu einem Gerinnsel, das ohne Zusatz von Serum entstanden ist. Die Zunahme der Maximalamplitude ist Ausdruck der Wirksamkeit des fibrinstabilisierenden Faktors, der die bei der Gerinnung entstehenden Fibrinteilchen vernetzt und die Polymerisation fördert.
- b) Führt man diesen Versuch unter Hinzufügen von Uraemikerserum durch, so findet man eine deutliche Zunahme des mE-Wertes im Vergleich zu dem Gerinnsel einer gesunden Versuchsperson.
- c) Im Vollblut-TEG zeigt sich bei Patienten mit einer Uraemie eine enorme Zunahme der Maximalamplituden im Vergleich zu Gesunden; d.h.: thrombelastographisch ist die Elastizität und die mechanische Belastbarkeit des Gerinnsels deutlich erhöht. Daraus ist zu schließen:
- d) Der fibrinstabilisierende Faktor ist bei Uraemie im Blut vermehrt, bzw. seine Aktivität ist erhöht!
- e) Im Unterschied zu nierengesunden Versuchspersonen findet sich die r-Zeit bei Uraemikern im Sinne einer Hypercoagulaemie verkürzt! Die Ursache dafür liegt in einer erhöhten

thromboplastischen Aktivität, die zu einer beschleunigten Umwandlung von Prothrombin zu Thrombin führt.

- f) Die Retraktion des Gerinnsels läuft im Uraemikerblut sehr viel schneller ab als im Blut von nierengesunden Versuchspersonen (in-vitro-Beobachtung).
- g) Bei der Untersuchung von gereinigten Systemen im TEG zeigt der mE-Wert - bei Zusatz g l e i c h e r Serumengen - eine direkte Abhängigkeit von der Fibrinogenkonzentration: Mit steigender Fibrinogenmenge nimmt die Maximalamplitude zu, und für vergleichende Untersuchungen - ohne Serum, mit Serum - ergab sich eine optimale Differenz der mE-Werte bei einer Fibrinogenkonzentration von 2000 mg %.
- h) Der mE-Wert von Gerinnseln aus gereinigten Systemen variiert in Abhängigkeit von der zugesetzten Serummenge: Bei Zusatz von N o r m a l - S e r u m erhält man die größten Amplituden bei einem Volumen von 0,1 ml Serum. Größere und kleinere Volumina ergeben niedrigere mE-Werte.
- i) Schließlich müssen wir feststellen, daß sich mit unserer Methode thrombelastographisch k e i n e Erklärung für die Blutungsneigung des Uraemikers finden läßt.
- k) Durch in-vitro-Beobachtung fanden wir die Thrombolyse bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz erheblich v e r l a n g s a m t im Vergleich zu Personen mit normaler Nierenfunktion.

Im Anschluß an unsere thrombelastographischen Untersuchungen mit Vollblut und Serum studierten wir die Einwirkung von Urin auf die Gerinnselbildung aus gereinigten Systemen. Durch neuere Untersuchungen verschiedener Autoren konnte gezeigt werden, daß der Urin mehrere Substanzen enthält, die in das Gerinnungssystem aktiv eingreifen.

Wir untersuchten zunächst thrombelastographisch den Einfluß von Nativurin auf die Gerinnselbildung aus gereinigten Systemen: Bei Zusatz von Urin von gesunden Personen zu einem Gerinnungsansatz aus Fibrinogen, Puffer und Thrombin-Calcium wird der mE-Wert kleiner im Vergleich zu einem Gerinnsel, das ohne Urin entstanden ist.

Wiederholt man diesen Versuch mit Uraemikerurin, so erhöht sich die Kurvenbreite im Vergleich zu Normalurin; jedoch bleiben beide mE-Werte unter der Maximalamplitude eines Gerinnsels, das ohne Urin gebildet wurde.

Untersucht man bei konstanter Fibrinogenmenge den Einfluß verschiedener Urinvolumina auf den mE-Wert im TEG, so findet sich eine deutliche Abhängigkeit der Kurvenbreiten von der Urinkonzentration: Hohe Urinkonzentrationen bedingen niedrige mE-Werte. Mit abnehmender Urinmenge steigt die Kurvenbreite im TEG an und erreicht ihr Maximum, wenn das Gerinnsel ohne Urin gebildet wird.

Alle diese Versuche zeigen, daß die Anwesenheit von Urin zum Wirksamwerden eines gerinnungshemmenden Prinzips führt, dessen Aktivität von der Urinkonzentration abhängt!

Um unsere Annahme zu stützen, daß die Abnahme des mE-Wertes im TEG bei Zusatz von Urin durch die fibrinolytische Aktivität des Harnes bedingt ist, haben wir die Urokinase-Aktivität durch E-Aminocapronsäure gehemmt.

Dabei zeigte es sich, daß n a c h der Hemmung der fibrinolytischen Aktivität der Zusatz von Urin zu einer Vergrößerung der Maximalamplituden im TEG führt. Die mE-Werte steigen an und übertreffen schließlich bei einem bestimmten Urin-EACA-Verhältnis sogar die Kurvenbreite eines Gerinnsels o h n e Urin.

Diese Ergebnisse lassen den Schluß zu, daß im Urin neben der fibrinolytischen Aktivität der Urokinase auch ein thromboplastisches Prinzip enthalten ist, das zu einer Verbesserung der Fibrinstruktur des Gerinnsels führt; es kommt jedoch erst nach Hemmung der Urokinase-Aktivität zur Wirkung.

Mit Hilfe einer anderen Untersuchungsmethode - der Streulichtmessung - überprüften wir unsere thrombelastographisch gewonnenen Ergebnisse:

Es zeigte sich, daß Zusatz von Urin von gesunden Versuchspersonen zu einem Gerinnungsansatz aus gereinigten Systemen eine V e r - m i n d e r u n g der Streulichtintensität hervorruft. Urin wirkt also hemmend auf die Ausbildung der Fibrinstruktur.

Wiederholt man diesen Versuch mit Uraemikerurin, so findet sich eine Zunahme der Streulichtintensität im Vergleich zu den Versuchen, die mit Normalurin durchgeführt wurden.

In beiden Versuchsreihen bleiben die Werte für ΔE jedoch unter der absoluten Größe des Nullwertes, also eines Gerinnsels, das ohne Urin entstanden war.

Quantitative, vergleichende Untersuchungen mit steigenden Mengen an Normal- und Uraemikerurin zeigten deutlich eine Abnahme der Kurvenbreite mit zunehmender Urinkonzentration im Gerinnungsansatz; der Abfall war mit Normalurin wesentlich stärker als mit Uraemikerurin. Wir können daraus auf eine Hemmwirkung des Urins schließen, die zu einer Änderung der Fibrinstruktur und damit zu einer Verminderung der optimalen Streu-Intensität führt.

L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s

- (1) SARRE, H.: Nierenkrankheiten.
Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1959
- (2) GROSS, R., H. NIETH,
E. MAMMEN: Blutungsbereitschaft und Gerinnungs-
störungen bei Uraemie.
Klin. Wschr. 107-112 (1958)
- (3) MAC FARLANE: zit. nach Sarre, H., a.a.O.
- (4) von DITTRICH, P.: zit. nach Sarre, H., a.a.O.
- (5) HARTERT, H.: Blutgerinnungsstudien mit der Thromb-
elastographie, einem neuen Untersu-
chungsverfahren.
Klin. Wschr. 577 (1948)
- (6) MONTIGEL, C.: Chemie, Physiologie und Pathophysio-
logie des Gerinnungsvorganges und der
Antikoagulantien.
Schattauer Verlag, Stuttgart 1961
- (7) KOLLER, F.: Spontanblutungen in: HADORN, W.:
Vom Symptom zur Diagnose.
2. Aufl., S. Karger Verlag Base-New York
1961
- (8) ROBBINS, K.C.: A Study on the Conversion of Fibrinogen
to Fibrin.
Amer. J. Physiol. 142, 581-587 (1944)
- (9) LAKI, K., L. LORAND: On the Solubility of Fibrin Clots.
Science 108, 280 (1948)
- (10) SHULMAN, S.: The Fibrin serum factor.
Nature 171, 606 (1953)
- (11) LAKI, K.: The Clotting of Fibrinogen.
Blood 8, 845 (1953)
- (12) HARTERT, H., H.G. LASCH,
I. PFISTERER: Charakterisierung und Funktion eines
Retraktions-Cofaktors.
Thromb. Diath. haem. Vol. 1, 445 (1957)
- (13) HARTERT, H.: Thrombelastographische Untersuchungen
zur Thrombusbildung: II. Über einen
thrombocytenunabhängigen zweiten Struk-
turbildungsmechanismus.
Klin. Wschr. 789 (1949)

- (14) JÜRGENS, J., R. MARK: in JÜRGENS, J.: III. Symposium Dtsch. Arbeitsgem. f. Blutgerinnungsforschung, Frankfurt/M. Schattauer Verlag, Stuttgart 1958
- (15) LOEWY, A.G., J.T. EDSALL: Studies on the Formation of Urea-insoluble Fibrin. J. Biol. Chem. 211, 829 (1954)
- (16) LORAND, L.: Fibrin Clots. Nature 166, 694 (1950)
- (17) HARTERT, H.: Ein Retraktionscofaktor im Serum. Arch. exp. Path. u. Pharm. 202, 164 (1951)
- (18) LORAND, L., A. JACOBSEN: Studies on the Polymerization of Fibrin. The Role of the Globulin: Fibrin-Stabilizing Factor. J. Biol. Chem. 230, 421 (1958)
- (19) SOKAL, G.: Plaquettes sanguines et structure du caillot. Editions Arscia S.A., Bruxelles, p. 73, 75-85 ff (1960)
- (20) SOKAL, G.: Thrombelastographische Untersuchungen über den Einfluß verschiedener Serumproteine und dialysierbarer Substanzen auf die Struktur des Blutgerinnsels. Klin. Wschr. 718 (1959)
- (21) LÜSCHER, E.F.: Glucose als Cofaktor bei der Retraktion des Blutgerinnsels. Experientia (Basel) 12, 294 (1956)
- (22) HARTERT, H.: Die Thrombelastographie in der Differentialdiagnose der hämorrhagischen Diathesen. Schweiz. Med. Wschr. 318 (1948)
- (23) TEZNER, O.: Der Einfluß verschiedener Salze auf die Retraktion des Blutgerinnsels. Z. exper. Med. 64, 462 (1929)
- (24) HUGGINS, C., D.B. TAPLEY, in Nature 167, 592 (1951)
E.V. JENSEN:
- (25) LORAND, L., K. KONISHI: in LORAND, L.: Properties and Significance of the Fibrin Stabilizing Factor (FSF) in: Progress in Coagulation, 238-251. Schattauer Verlag, Stuttgart 1962

- (26) LORAND, L.: 'Fibrino-Peptide': New Aspects of the Fibrinogen-Fibrin Transformation. *Nature* 167, 992 (1951)
- (27) MARX, R.: Zur Kenntnis der für die Thrombusfestigkeit bedeutsamen Blutfaktoren. - *Ergebn. d. Bluttransfusionsforschung III. Bibliotheca haematol., Fasc. 6, 147-153 (1957)*
- (28) WEINER, M., L.G. WEINBERG: Clot Firmness. *Blood* 12, 1125-1131 (1957)
- (29) SOKAL, G.: Applications experimentales de la thrombelastographie. *Rev. belge Path.* 26, 221 (1957)
- (30) HARTERT, H.: Ein Retraktions-Cofaktor im Serum. *Klin. Wschr.* 139 (1954)
- (31) JÜRGENS, J., F.K. BELLER: Klinische Methoden der Blutgerinnungsanalyse. Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1959)
- (32) EBBECKE, V., F. KNÜCHEL: *Pflügers Arch. ges. Physiol.* 243, 54 (1939)
- (33) FREY, J., J. JÜRGENS: Untersuchungen über die Bedingungen zur Bildung von Harnzylindern. *Med. Klinik* 14, 560-567 (1964)
- (34) MAC FARLANE, R.G., J. PILLING: *Nature (London)* 779 (1947)
- (35) ASTRUP, T.: *Blood* 11, 781 (1956)
- (36) ASTRUP, T., J. STERNDOFF: *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* 81, 675 (1952)
- (37) von KAULLA, K.N., E. von KAULLA, M.J. CALDWELL, W.H. SEEGER: Procoagulant Material from Human Urine in Prothrombin Activation. *Thromb. Diath. haem.* 9, 53 (1963)
- (38) ALKJAERSIG, N., A.P. FLETCHER, S. SHERRY: E-Aminocaproic acid: an inhibitor of plasminogen activation. *J. biol. Chem.* 234, 832 (1959)
- (39) JÜRGENS, J.: Persönliche Mitteilung

L e b e n s l a u f

Ich, Klaus-Dieter B r u n s, wurde am 19. November 1938 als Sohn des damaligen Landgerichtsrats Dr. jur. habil. Hans-Jürgen Bruns und seiner Ehefrau Dr. med. Gerda Bruns, geb. Kraft, in Frankfurt/M. geboren.

Nach 4 1/2-jährigem Besuch der Volksschule bestand ich Ostern 1949 die Aufnahmeprüfung für Höhere Schulen und legte neun Jahre später am Realgymnasium 'Musterschule' in Frankfurt/M. das Abitur ab.

Mit dem Sommersemester 1958 begann ich an der Universität Frankfurt/M. das Studium der Medizin. Nach dem 2. Semester bestand ich die naturwissenschaftliche Vorprüfung mit der Note "gut", und nach dem 5. Semester legte ich die ärztliche Vorprüfung an der Universität Frankfurt/M. ebenfalls mit der Gesamtnote "gut" ab. Die ersten beiden klinischen Semester absolvierte ich in Freiburg i. Brsg., um anschließend wieder nach Frankfurt/M. zurückzukehren. Hier bestand ich nach sechs klinischen Semestern das medizinische Staatsexamen mit der Gesamtnote "sehr gut".

Seit 1. März 1964 arbeite ich als Medizinalassistent in der I. Medizinischen Universitätsklinik, Frankfurt/M.

Klaus - Dieter Bruns

Meine akademischen Lehrer waren:

Universität Frankfurt/Main

Prof. Dr. P. Christ	Innere Medizin
Prof. Dr. B. de Rudder	Kinderheilkunde
Prof. Dr. J. Frey	Innere Medizin
Prof. Dr. H. Frick	Anatomie
Prof. Dr. R. Frowein	Neurologie
Prof. Dr. R. Geißendörfer	Chirurgie
Prof. Dr. J. Gerchow	Gerichtliche Medizin
Prof. Dr. E. Güntz	Orthopädie
Prof. Dr. R. Heinecker	Innere Medizin
Prof. Dr. E. Heinz	Vegetative Physiologie
Prof. Dr. F. Herrmann	Dermatologie
Prof. Dr. K. Herzberg	Hygiene
Prof. Dr. F. Hoff	Innere Medizin
Prof. Dr. P. Holtz	Pharmakologie
Prof. Dr. J. Jürgens	Innere Medizin
Prof. Dr. G. Kahlau	Pathologie
Prof. Dr. O. Käser	Geburtshilfe und Gynaekologie
Prof. Dr. E. Landes	Venerologie
Prof. Dr. G. Leonhardi	Dermatologie
Prof. Dr. W. A. Lieb	Augenheilkunde
Prof. Dr. R. Mittermaier	HNO-Heilkunde
Prof. Dr. R. Ortman	Anatomie
Prof. Dr. K. L. Radenbach	Innere Medizin
Prof. Dr. W. Rotter	Pathologie
Prof. Dr. R. Schneider	Anatomie
Prof. Dr. A. W. Schwenzer	Gynaekologie
Prof. Dr. D. Starck	Anatomie
Prof. Dr. R. Thiel	Augenheilkunde
Prof. Dr. E. Ungeheuer	Chirurgie
Prof. Dr. K. Weiße	Kinderheilkunde
Prof. Dr. E. Westermann	Pharmakologie

Prof. Dr. K. Wezler
Prof. Dr. G. Wilhelm
Prof. Dr. R. K. Zahn
Prof. Dr. H. Zimmermann
Prof. Dr. J. Zutt
Privatdozent Dr. R. Degkwitz
Privatdozent Dr. J. E. Otto
Privatdozent Dr. W. Weber

Animalische Physiologie
Kinderheilkunde
Physiologische Chemie
Pathologie
Psychiatrie und Neurologie
Psychiatrie
Augenheilkunde
Chirurgie

Universität Freiburg i. Brsg.

Prof. Dr. Beickert
Prof. Dr. Büchner
Prof. Dr. Hassler
Prof. Dr. Heilmeyer
Prof. Dr. Jung
Prof. Dr. Krauss
Prof. Dr. Kümmerle
Prof. Dr. Rehn
Prof. Dr. Stegmann
Prof. Dr. Stutz
Prof. Dr. Umbach
Privatdozent Dr. Hoffmann
Privatdozent Dr. Kern
Privatdozent Dr. Mey
Privatdozent Dr. Poeck

HNO-Heilkunde
Pathologie
Neurologie
Innere Medizin
Neurologie
Chirurgie
Chirurgie
Chirurgie
Gynaekologie und Geburtshilfe
Röntgenologie
Neurochirurgie
Innere Medizin
Chirurgie
Gynaekologie
Neurologie

Ehrenwörtliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, daß ich die der Medizinischen Fakultät Frankfurt/M. zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel:

"Über das Verhalten des fibrinstabilisierenden Faktors (FSF) bei der Niereninsuffizienz"

im Gerinnungslabor der II. Medizinischen Universitätsklinik (Direktor: Prof. Dr. J. Frey) unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. J. J ü r g e n s ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Ich habe bisher an keiner in- und ausländischen Medizinischen Fakultät ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht, noch die vorliegende Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Frankfurt/M., den 15. August 1964

Klaus - Dieter Bruns

Meinem Doktorvater,

Herrn Prof. Dr. med. Jörg J ü r g e n s ,

danke ich für die Überlassung des Themas und die Leitung
der Arbeit, sowie für seine Unterstützung und seine wert-
vollen Ratschläge.

